

Réf :.....

Mémoire de Fin de Cycle
En vue de l'obtention du diplôme

MASTER

Thème

**L'enrichissement des olives de table
tailladées élaborées en naturel en
saumure avec les feuilles d'olivier**

Présenté par :

SALI Nora et TAMENDJARI Lydia

Soutenu le : **24 Juin 2018**

Devant le jury composé de :

M^r CHIKHOUNE. A

M^{me} TAMENDJARI. S

M^{me} LEHOUCHE. R

MCA

MCB

MCB

Président

Encadreur

Examineur

Année universitaire : 2017 / 2018

Remerciements

Avant tout, nous remercions Dieu le tout puissant de nous avoir accordé le courage, la patience et la santé pour réaliser ce travail.

Au terme de ce travail, nous tenons particulièrement à exprimer nos vifs remerciements à notre promotrice M^{me} TAMENDJARI. S qui nous a accordée une opportunité d'acquérir de nouvelles connaissances. On tient aussi à la remercier pour sa directive précieuse, conseils, et son suivi scientifique.

Nos vifs remerciements vont également aux membres du jury M^{me} LEHOUCHE et M^f CHIKHOUNE pour l'intérêt qu'ils ont porté à notre recherche en acceptant d'examiner notre travail et de l'enrichir par leurs propositions.

En guise de reconnaissance on tient à témoigner nos sincères remerciements à M^f TAMENDJARI. A pour son accueil au sein du laboratoire de Biochimie.

On souhaite également remercier M^{me} SMAIL, M^{lle} OUENDJELI pour leurs aides et ses conseils durant la période du stage au niveau du laboratoire de Biochimie.

On adresse nos remerciements les plus profonds à nos parents pour le soutien inconditionnel dont ils ont fait preuve depuis la naissance. Merci pour le soutien financier, moral, psychologique, et matériel. Si on est ici aujourd'hui c'est grâce à vous.

Dans l'impossibilité de citer tout les noms, nos sincères remerciement vont a tout ceux et celles, qui ont contribué de près ou de loin a la réalisation de ce travail.

Dédicaces

A l'aide de DIEU, le tout puissant ce travail est achevé.

*Je dédie ce modeste travail à mes chers parents (PAPA KAMEL et MAMA NEDJMA).
Aucun hommage ne pourrait être à la hauteur de l'amour dont ils ne cessent de me combler,
que dieu leur procure bonne santé, le bonheur et longue vie.*

*A mon cher fiancé HAMZA qui m'a soutenue tout au long de ce projet, a mes chers
beaux parents (MAMA HOURIA et PAPA KAMEL) qui m'ont soutenue avec leurs prières.*

A mon cher frère bien sûr SOFIANE qui m'a aidé.

A mes chères sœurs, les jumelles DJIDJI-WIWI, YASMINE et MERIEUM.

*A mon binôme NORA, avec laquelle j'ai eu le plaisir de travailler et surmonté les
difficultés.*

*Et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin pour que ce projet soit possible, je
vous dis merci.*

LYDIA

Dédicaces

A la mémoire de mon cher frère « LAMINE », et ma grand-mère maternelle « IMA HADJA » Qui ont été toujours dans mon esprit et dans mon cœur, je vous dédie aujourd'hui ma réussite. Que Dieu, le miséricordieux, vous accueille dans son éternel paradis.

A ma chère mère ZAHRA, à mon cher père SAËI, aucun mot ne pourra exprimer le degré d'amour que j'éprouve pour vous. En ce jour mémorable, pour moi ainsi que pour vous, recevez ce travail en signe de ma vive reconnaissance et ma profonde estime. Qu'Allah le tout puissant vous préserve et vous accorde santé, bonheur et longue vie. Je vous dois ce que je suis aujourd'hui, Vous êtes ma vie !

A mes frère, LYES et ABDREZAK et à mes sœurs LYDIA, WARDA, et à ma belle sœur NASSIMA, Je ne pourrais jamais exprimer l'amour que j'ai pour vous. Vos encouragements et votre soutien m'ont toujours été d'un grand secours. Que dieu le tout puissant vous préserve du mal, vous comble de santé, de bonheur et vous procurer une longue vie. Vous êtes ma fierté.

Une dédicace particulière à mon cher neveu, à mon chou AIMED-ELDINE Pour toute l'ambiance dont tu m'as entouré, pour ta tendresse et pour ta spontanéité. Je te dédie ce travail. Reçois mes meilleurs vœux pour toi. Tu es notre joie.

A toutes personne qui m'a soutenu, aidé, encouragé et à toutes personne qui a contribué de prêt ou de loin à la réalisation de ce travail. Merci !

Nora-Kenza

Sommaire

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction	1
--------------------	---

Synthèse bibliographique

Chapitre 1 : Généralités sur les olives de table

I. Définition de l'olive	3
II. Classification de l'olive	4
III. Composition chimique des olives.....	4
IV. Définition de l'olive de table	8
V. Marché mondial des olives de table	10
V.1. Production d'olives de table en Algérie :.....	10

Chapitre 2 : La feuille d'olivier

I. Description de la feuille d'olivier.....	11
II. Composés phénoliques de la feuille d'olivier	11
III. Utilisation traditionnelle des feuilles en médecine.....	13
IV. Les principaux composants de la feuille d'olivier et leur activité antioxydante	14

Partie expérimentale

Matériel et méthodes

I. Présentation du matériel végétal	16
II. Analyses effectuées sur les olives	18
1. Test d'humidité :	18
2. Acidité titrable :	18
3. Dosage des sucres :	18
4. Teneur en composés phénoliques.....	19
4.1 Préparation des extraits méthanoliques :.....	19
4.2 Dosage des polyphénols totaux :.....	19
4.3 Dosage des ortho-diphénols :.....	20

5.2	Pouvoir anti-radicalaire :.....	21
6.	Analyses microbiologiques	21
6.1	Préparation de l'inoculum :.....	21
6.2	Préparation des extraits :.....	22
6.3	Test d'aromatogramme :.....	22
7.	Analyse sensorielle.....	23
7.1	Jurys pour l'analyse sensorielle	23
7.2	Code des échantillons	23
7.3	Evaluation sensorielle	23
8.	Analyse statistique.....	23

Résultats et discussion

I.	Teneur en eau	24
II.	Acidité libre	24
III.	Teneur en sucres réducteurs	24
IV.	Les composés phénoliques	26
1.	Les polyphénols totaux	26
2.	Les <i>ortho</i> -diphénols	27
3.	Les flavonoïdes	29
V.	Evaluation de l'activité antioxydante	30
V.1.	Activité anti-radicalaire	30
V.2.	Pouvoir réducteur	32
VI.	Evaluation de l'activité antibactérienne	33
VII.	Evaluation de l'analyse sensorielle	35
1.	Caractérisation des produits	35
1.1.	Pouvoir discriminant par descripteurs.....	35
1.2.	Coefficient des modèles	36
2.	Paramètres d'analyse en composantes principales (ACP)	38
3.	Classification ascendante hiérarchique (CAH)	39
	Conclusion et perspectives	41
	Références bibliographiques	

Annexes

Liste des abréviations

Abs : Absorbance

ANOVA : Analyse de la variance

COI : Conseil Oléicole International

DNS : 3,5-dinitrosalicylique

DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazine

EAT : Equivalent d'Acide Tannique

Echa : Echantillon

EPF : Extrait de poudre des feuilles d'olivier

Eq : Equivalent

IC₅₀: Concentration nécessaire pour inhiber 50% du radical DPPH

MF : Matière fraîche

MS : Matière sèche

OEF : Olives tailladées enrichis avec les feuilles d'olivier

OEP : Olives tailladées enrichis avec l'extrait de poudre des feuilles d'olivier

OF: Olives fraîches

OT : Olives tailladées non enrichis

TCA : Acide trichloracétique

Liste des figures

Numéro	Titre	Page
1	Composition physique de l'olive.	3
2	Structure des principaux composés phénoliques retrouvés dans l'olive.	7
3	Photograohie des feuilles et de la poudre des feuilles d'olivier.	17
4	Photographie des différents échantillons étudiés, olives tailladées enrichis avec l'extrait de poudre des feuilles d'olivier (OEP), olives tailladées enrichis avec les feuilles d'olivier (OEF), olives tailladées non enrichis (OT).	17
5	Teneurs en sucres des différents échantillons analysés.	25
6	Teneurs en composés phénoliques des échantillons étudiés.	26
7	Teneurs en <i>ortho</i> -diphénols des différents échantillons étudiés.	28
8	Teneurs en flavonoïdes des différents échantillons étudiés.	29
9	Pouvoir anti-radicalaire des olives des différents échantillons étudiés.	30
10	Pouvoir réducteur des différents échantillons étudiés.	32
11	Photographie des boites de pétries montrent les zones d'inhibitions des différents extraits vis avis des différentes souches étudiées.	33
12	Pouvoir discriminant par descripteurs.	36
13	Coefficient des modèles d'échantillons des olives de table.	37
14	Corrélation entre les variables et les facteurs.	38
15	profil des différentes classes créées.	39

Liste des tableaux

Numéro	Titre	Page
I	Situation botanique de l'espèce <i>Olea europea L.</i>	4
II	Différentes préparations de l'olive de table commercialisées.	9
III	Marché algérien d'olives de tables (x 1.000 tonnes) de 2012 à 2017 selon COI.	10
IV	Niveaux de concentration des principaux composés phénoliques dans les feuilles d'olivier.	12
V	Les caractéristiques principales de la variété « <i>Azzeradj</i> »	16
VI	Les différentes bactéries étudiées.	22
VII	Valeurs IC ₅₀ des différents échantillons.	31
VIII	Activité antimicrobienne des différents échantillons étudiés.	34
IX	Les différentes classes de jury créées.	39

Introduction

Introduction

L'olivier est omniprésent dans les pays du bassin méditerranéen et dans quelques autres régions du monde où le climat est favorable. Son fruit à noyau est la matière première pour la production de l'huile d'olive et des olives de table (**Bianchi, 2003**).

Les olives de table sont le fruit sain de variétés d'oliviers cultivés (*Olea europaea L.*) qui sont choisis pour leur production d'olives dont le volume, la forme, le rapport chair-noyau, le goût, chair fine, la fermeté et la facilité de détachement du noyau en font un fruit particulièrement adapté à la transformation. L'olive est traitée pour se débarrasser de son amertume et conservé par fermentation naturelle; ou par traitement thermique, avec ou sans ajout de conservateurs; emballé avec ou sans liquide de couverture (**Gómez et al., 2006**).

La production mondiale d'olives de table pour la campagne 2017/2018 atteindrait 2 951 500 t, soit une augmentation de 3 % (+ 88 500 t) par rapport à la dernière campagne. Il s'agirait donc d'une campagne record, résultat des bonnes récoltes dans plusieurs pays membres du COI (**COI, 2017**).

Les olives et la feuille d'olivier sont une source particulièrement riche en antioxydants phénoliques, y compris des composés distinctifs tels que le verbascoside, le ligstroside et l'oleuropéine. L'extraction des composés à partir de fruits est couramment réalisée avec du méthanol ou du méthanol aqueux. Des études sur l'activité antioxydante des composés phénoliques d'olive ont tenté d'examiner soit des composants simples, soit des extraits de fruits et d'huiles (**McDonald et al., 2001 ; Lee, 2009**).

Les composés antioxydants peuvent augmenter la durée de conservation en retardant le processus de peroxydation des lipides, qui est l'une des principales raisons de la détérioration des produits alimentaires au cours du traitement et de la conservation (**Sousa et al., 2006**).

La préparation des olives de table se fait suivant trois procédés principaux, à savoir les olives vertes selon le style espagnol, les olives mûres noires ou style Grec, et les olives tournantes noircies selon le style Californien, mais d'autres plans industriels peuvent être réalisés (**Pereira et al., 2006**). Ces traitements d'élaboration peuvent prendre des mois pour que le produit final soit prêt à la consommation, et dans le but de réduire ce temps, la réalisation d'entailles sur la chair de l'olive (olives tailladées) facilite le processus d'élaboration et réduit ainsi le temps d'élaboration. La technologie du traitement influence grandement la composition physico-chimique de l'olive et, par conséquent, le produit final. Le traitement par lessive et la fermentation, tous deux couramment utilisés dans la plupart des

préparations d'olives de table, provoquent des changements chimiques et physiques affectant les constituants lipidiques, les phénols, les sucres et les sels. Cela se traduit généralement par un ramollissement de l'olive, ce qui réduit la valeur marchande du produit final. Il est bien connu qu'il existe une relation entre la structure, la composition chimique et les propriétés texturales. De nombreuses études ont porté sur les changements physiques et chimiques qui se produisent dans les tissus des oliviers au cours du traitement (**Soler Rivas *et al.*, 2000 ; Ben Othman *et al.*, 2009 ; Mettouchi *et al.*, 2016a**). Ces changements touchent les polyphénols principalement l'oleuropéine qui diffuse de la chair d'olive dans la saumure. Il est, de ce fait nécessaire de mettre au point des méthodes pour minimiser cette perte en substances biologiques qui est inévitable au cours du procédé d'élaboration.

L'objectif du travail vise à évaluer l'effet de l'enrichissement des olives de table tournantes tailladées de la variété *Azzeradj* avec les feuilles d'olivier et l'extrait de ces feuilles sur l'activité antioxydante et antibactérienne des olives de table et d'estimer l'appréciation de ces nouvelles formulations par le consommateur en réalisant une analyse sensorielle.

Le travail est basé sur deux parties, la première partie est consacrée à la recherche bibliographique, où sont mis en revue la composition chimique des olives de table, les différents procédés d'élaboration connus dans le monde, et la composition chimique des feuilles d'olivier et leurs effets thérapeutiques sur la santé humaine.

La deuxième partie est expérimentale, elle s'intéresse à déterminer l'acidité, les teneurs en sucres des olives de table et les teneurs en polyphénols totaux, en flavonoïdes, et en *ortho*-diphénols et d'évaluer leur activité antioxydante, leur pouvoir antibactérien et de réaliser une analyse sensorielle.

Partie 1

Synthèse

Bibliographique

Chapitre 1

Généralités sur l'olive de table

L'olivier (*Olea europaea L.*) est un petit arbre qui appartient à la famille des Oleaceae. Il est originaire des régions tropicales et tempérées chaudes du monde. L'arbre, célèbre pour ses fruits, appelé l'olives, est commercialement important dans la région méditerranéenne en tant que source principale d'huile d'olive et d'olive de table. Cet arbre est généralement distribué dans les zones côtières du bassin méditerranéen oriental, les zones côtières adjacentes du sud-est de l'Europe, l'Asie occidentale et l'Afrique du Nord ainsi que le Nord de l'Iran à l'extrémité sud de la mer Caspienne. Bien que l'olivier soit maintenant cultivé dans plusieurs parties du monde, la région de Méditerranéenne est la principale zone de production, représentant environ 98% de l'oléiculture mondiale (Parvaiz *et al.*, 2013).

I. Définition de l'olive

Le fruit de l'olivier est une drupe de forme ovale et possède une taille typique de 2 à 3 cm et un rapport pulpe / noyau de 3,0 à 6,5. Le poids des fruits d'olive peut varier de 2 à 12 g, bien que certaines variétés puissent peser jusqu'à 20 g. Le fruit de l'olive est essentiellement composé de 3 parties, l'épicarpe ou la peau, le mésocarpe ou la pulpe et l'endocarpe ou le noyau. L'épicarpe est recouvert de cire; Pendant la phase de croissance, la couleur de la peau passe du vert clair au violet et au brun ou au noir. Le mésocarpe, avec une chair molle et pulpeuse, représente 84-90% (de la masse totale des fruits) tandis que l'endocarpe dur (pierre) contenant la graine ou le noyau peut différer de 13 à 30% du poids du fruit. (Bianchi 2003 ; Ghanbari *et al.*, 2012).

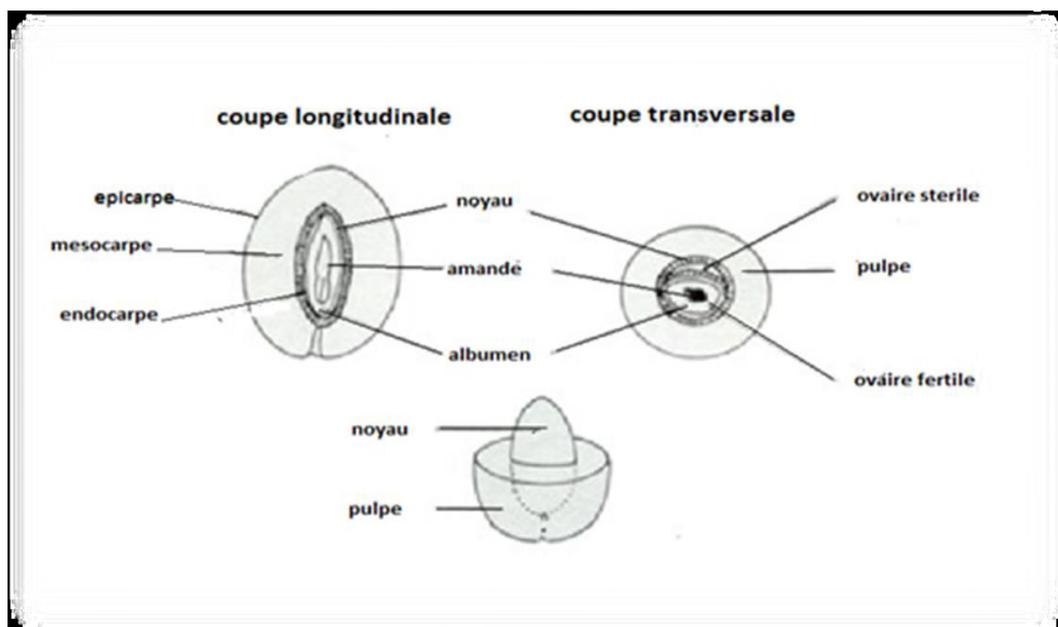


Figure 1: Composition physique de l'olive (Amouretti et Comet, 2000).

II. Classification de l'olive

Le tableau I décrit la situation botanique de l'espèce *Olea europaea L.*:

Tableau I : Situation botanique de l'espèce *Olea europaea L.* (Benlemlih et Ghanem, 2012).

Règne	Plantae
Embranchement	Magnoliophyta
Sous embranchement	Magnoliophytina
Classe	Magnoliopsida
Sous classe	Dialypetales
Ordre	Lamiales
Famille	Oleaceae
Genre	<i>Olea</i>
Espèce	<i>Olea europaea L.</i>
Sous espèces	<i>O. europaea subsp. europaea varsylvestris</i> <i>O. europaea subsp. europaea var. europaea</i>

III. Composition chimique des olives

La croissance et la maturation de l'olive est un processus long, qui prend environ 5 mois dans les conditions climatiques habituelles. La composition moyenne des fruits d'olive regroupe l'eau (50%), les protéines (1,6%), l'huile (22%), les hydrates de carbone (19,1%), la cellulose (5,8%), les substances inorganiques (1,5%) et les composés phénoliques (1-3%). Les autres composés importants présents dans les olives sont la pectine, les acides organiques et les pigments (Ghanbari *et al.*, 2012).

La distribution dépend de plusieurs paramètres tels que la variété, les pratiques culturales, l'origine géographique et le niveau de maturation (Ghanbari *et al.*, 2012).

III.1. Les protéines: La chair d'olive contient de faibles niveaux de protéines solubles et insolubles à des concentrations d'environ 1,5% en poids de protéines. Les protéines solubles peuvent être transférées dans la saumure, fournissant des acides aminés pour les organismes fermentaires (Kailis et Harris., 2007).

III.2. Les pigments : La chair de l'olive contient de la chlorophylle a et b (verte), des caroténoïdes, des hydrocarbures triterpéniques (jaune) et anthocyanes (violet-noir). Initialement, la chlorophylle est le principal pigment dans l'olive qui joue un rôle important

dans la photosynthèse. Comme le fruit mûrit, les niveaux de chlorophylle diminuent tandis que les teneurs en d'autres pigments, bêta-carotènes et les anthocyanes augmentent. Les anthocyanes donnent naturellement aux olives mûres noires leur couleur pourpre-noire caractéristique. Le principal anthocyane des olives est la cyanidine (**Kailis et Harris., 2007**).

III.3. Les vitamines : Sont retrouvées dans l'olive des vitamines hydrosolubles (l'acide ascorbique (vitamine C), la thiamine (vitamine B1), Riboflavine (vitamine B2) et niacine (vitamine B6), qui seront perdues après élaboration (**Bianchi et al, 2003**).

III.4. Les acides organiques : tels que les acides citrique, oxalique et malique. Les quantités réelles dépendent de la variété, de l'état de maturation et les conditions de croissance. la diffusion de ces acides organiques libres de la chair vers la saumure contribue à l'acidité initiale de la saumure, en particulier lorsque les olives sont taillées (**Kailis et Harris., 2007**).

III.5. Les antioxydants de l'olive

III.5.1. Les composés phénoliques

Les composés phénoliques nommés métabolites secondaires des plantes aromatiques qui sont couramment distribués dans tout le règne végétal (**Ghanbari et al., 2012**). Ce sont des substances qui présentent dans leur structure au moins un cycle aromatique porteur d'un nombre variable de fonctions hydroxyles (**Ribereau-Gayon, 1968 ; Hennebelle et al., 2004**), Ce qui confère à ces composés des propriétés antioxydantes et antimicrobiennes et sont également responsables de l'ampleur du brunissement dans le fruit. Ces composants phénoliques contribuent également aux caractéristiques sensorielles et aromatiques de l'olive ainsi que confèrent des avantages pharmaceutiques et physiologiques (**Ghanbari et al., 2012**).

Les principaux phénols lipophiles sont les crésols tandis que les principaux phénols hydrophiles comprennent les acides phénoliques, les alcools phénoliques, les flavonoïdes et les secoiridoïdes; Les acides phénoliques à squelette basique de C6-C1 (acide hydroxybenzoïque) tels que l'acide vanillique, l'acide syringique, l'acide gallique; C6-C3 (acide hydroxycinnamique) tels que l'acide caféique, l'acide férulique et l'acide sinapique, et flavonoïdes avec la structure chimique de C6-C3-C6 tels que la cyanidine ont été étudiés dans l'olive fruit. Le principal dérivé de l'acide hydroxycinnamique rapporté dans l'olive est le verbascoside. Les principaux alcools phénoliques des olives comprennent l'oleuropéine β -

(3,4-dihydroxyphényléthanol) ou l'hydroxytyrosol et le p-hydroxyphényléthanol (tyrosol) (figure 2) (Ghanbari *et al.*, 2012).

- a) **Les sécoiridoïdes** : L'oleuropéine est le principal constituant des sécoiridoïdes des olives non mûres. La concentration de ce composé diminue avec la maturation, alors que la déméthyleuropeïne et la forme dialdéhydrique de l'acide élénolique liée au β - (3,4-dihydroxyphényl- éthanol) ou hydroxytyrosol) augmentent. (Ragazzi et Rada, 2008). Le ligstroside (désacétoxy-ligstroside aglycon), qui contribue à l'odeur piquante de l'huile d'olive extra vierge, a été identifié dans l'olivier. Différentes parties de l'olive, y compris les graines, la peau et surtout la pulpe, contiennent aussi de l'oleuropéine, de la déméthyleuropeïne et du verbascoside, mais le nuzhenide n'est détecté que dans la graine. L'amertume du fruit de l'olivier est principalement attribuée à l'apparition de l'oleuropéine et doit être éliminée dans le traitement des olives de table. Le traitement alcalin (NaOH) hydrolyse l'oleuropéine en β - (3,4-dihydroxyphényl) éthanol) et l'oléoside 11-méthyl ester rendant l'olive agréable au goût (Kailis et Harris, 2007; Ben Othman *et al.*, 2009).
- b) **Les ortho-diphénols** Ce sont des composés phénoliques importants présents dans l'olive, constitués en grande partie de l'hydroxytyrosol, l'acide caféique et l'oleuropéine (Brenes Balbuena *et al.*, 1992), ils sont caractérisés par leur fonction *O*-dihydroxyle dans le noyau catéchol, qui leur confèrent une grande capacité antioxydante (Mc Donald *et al.*, 2001 ; Lewis, 2002).
- c) **Les flavonoïdes** sont principalement constitués de flavonol glycosides tels que le lutéoline 7-O-glucoside, la rutine, l'apigénine 7-O-glucoside, les anthocyanines, la cyanidine 3-O-glucoside et la cyanidine 3-O-rutinoside (Ghanbari *et al.*, 2012).

III.5.2. Les tocophérols

La vitamine E est une vitamine liposoluble de formule brute $C_{29}H_{50}O_2$ «Vitamine E» est le terme générique utilisé pour désigner les différents tocophérols qui se distinguent entre eux par le nombre et la situation des groupements méthyles fixés sur le noyau aromatique. L' α -tocophérol est souvent considéré comme le plus efficace mais leur activité relative dépend de la température et de la nature du substrat (Hennebelle *et al.*, 2004).

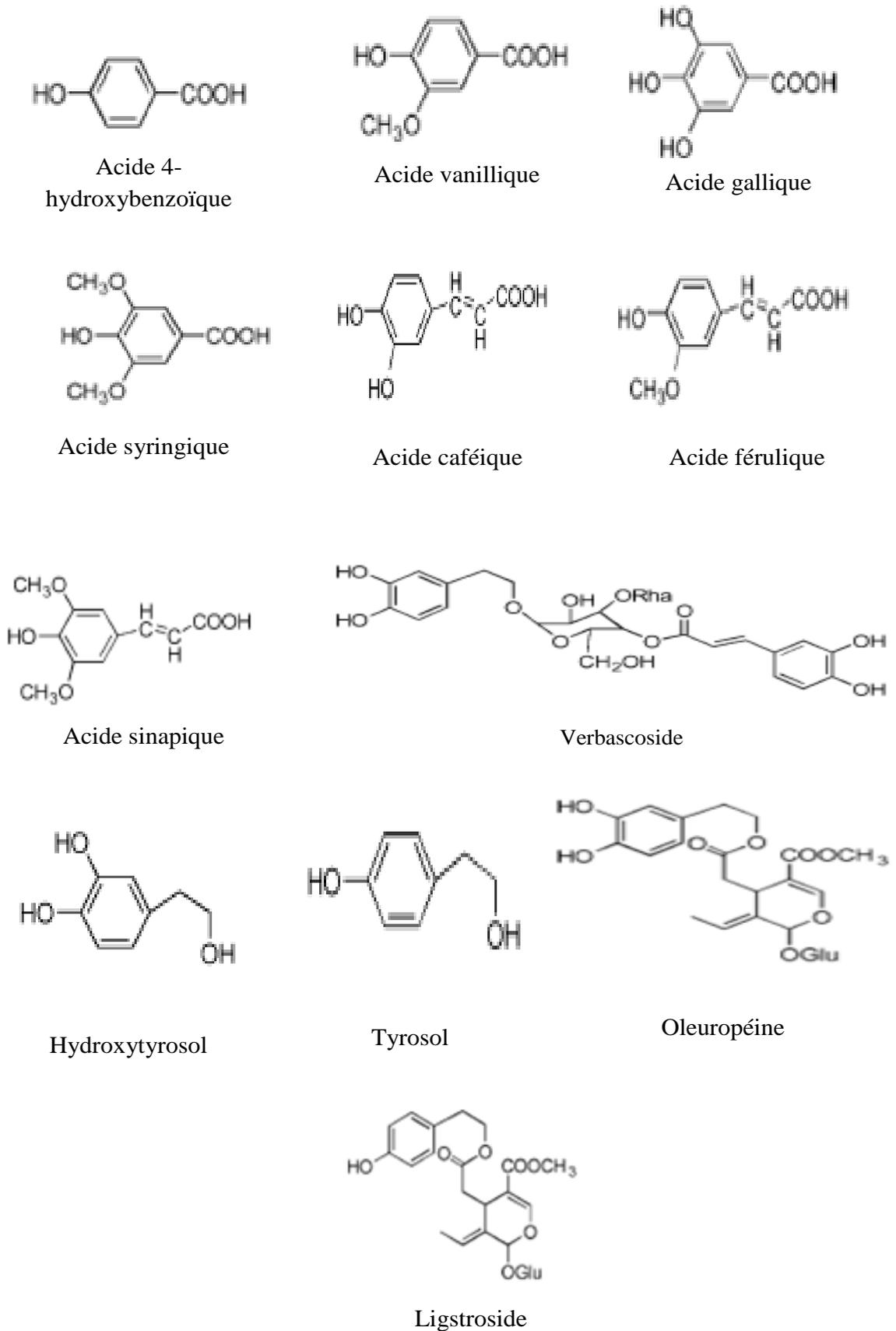


Figure 2 : Structure des principaux composés phénoliques retrouvés dans l'olive (**Ryan et al., 2002**).

IV. Définition de l'olive de table

Selon le COI, (2004), le terme « olive de table » désigne le produit préparé à partir des fruits sains de variétés de l'olivier cultivé qui sont choisis pour leur production de fruits, dont le volume, la forme, la proportion de la chair par rapport au noyau, la finesse de la chair, la saveur, la fermeté et la facilité à se détacher du noyau les rendent particulièrement aptes à la confiseries. Soumis aux traitements d'élaboration, conservés par la fermentation Naturelle ou par traitement thermique, avec ou sans agent de concentration, conditionnés avec ou sans liquide de couverture et offerts à la consommation finale comme olives de table.

IV.1. Les types d'olives

a) Olives vertes

Fruits de couleur vert franc à vert - jaune, brillant ou pruiné, récoltés au moment où ils ont atteint leur complet développement mais nettement avant la véraison.

b) Olives tournantes

Fruits cueillis à la véraison et avant complète maturité, encore peu riches en huile, et ayant atteint une teinte légèrement rosé clair à violet.

c) Olives noires mûres

Fruits cueillis à maturité, riches en huile, ayant acquis une teinte noire brillante ou mate, ou noir violacé ou brun noir, non seulement sur la peau mais dans l'épaisseur de la chair (**Duriez, 2004**).

IV.2. Les différents produits commercialisés

Dans le tableau III, sont données les différentes préparations d'olives de table commercialisées.

IV.3. Différents procédés d'élaboration connus dans le monde :

La demande commerciale, la variété d'olive et le stade de maturité au moment de la récolte dictent normalement la nature du traitement. Les olives de table sont habituellement traitées selon l'un des procédés suivants :

- a) **Style espagnol** : les olives vertes fermentées de style espagnol sont sans doute le plus important économiquement. Les fruits sont récoltés tout en restant jaune ou jaune verdâtre. Ils sont traités avec de l'hydroxyde de sodium 1,3% à 2,5% pendant 6 à 10 h. Cela élimine la plus grande partie de l'oleuropéine, composé amer. Les olives sont ensuite fermentées dans une saumure de 6 à 10% de NaCl (**Spyropoulou et al., 2001**).

- b) **Style American** : La méthode de traitement de « style américain » commence par des lavages à l'hydroxyde de sodium pour éliminer l'amertume de l'oleuropéine. Entre les lavages, les olives sont (muries) par exposition à l'air. Une fois les olives lavées, elles peuvent être fermentées en saumure ou mises en boîte et stérilisées (**Chemonics International INC, 2007**).
- c) **Style Grec** : Selon cette méthode typiquement pratiquée en Grèce, la cueillette des olives est effectuée lorsque le fruit est mûr. les olives sont conservées dans une solution de saumure à 8% pendant une durée appropriée. ceci rend la fermentation plus sûre en évitant toute action microbienne dangereuse. les olives peuvent également être emballées dans de la saumure contenant une petite quantité de vinaigre (**Bianchi, 2003**).
- d) **Style kalamata** : Les olives kalamata, une variété d'olives naturellement de faible teneur en oleuropéine, ne sont pas traités avec de l'hydroxyde de sodium. Elles sont immergées dans de l'eau ou une solution légèrement salée, lavées, puis fermentées dans du vinaigre avant d'être emballées dans une saumure fraîche et de l'huile d'olive (**Chemonics International, INC, 2007**).

Le tableau qui suit résume les différentes préparations commerciales d'olives de table :

Tableau II : Différentes préparations de l'olive de table commercialisées
(**Chemonics International, INC, 2007**).

Olives Vertes	Olives Tournantes	Olives Noires
Olives vertes entières	Olives tournantes entières	Olives noires confites entières
Olives vertes cassées	Olives tournantes tailladées	Olives noires façon Grèce dénoyautées
Olives vertes dénoyautées	Olives tournantes cassées	Olives noires confites dénoyautées
Olives vertes en rondelles	Olives tournantes à la sauce	Olives noires confites en tranches
Olives vertes en tranches		Olives noires confites en rondelles
Salades d'olives vertes		Olives noires au sel sec
Olives vertes à la sauce		
Olives vertes farcies aux anchois, aux piments, aux câpres.		
Olives vertes farcies cocktail		

V. Marché mondial des olives de table

La production mondiale d'olives de table au cours des près de 30 campagnes a évolué de manière constante et régulière et a été multipliée par 3,1 durant cette période, passant de 950 000 tonnes en 1990/91 à 2 953 500 tonnes en 2017/18, soit une augmentation de 211 % (+ 2 003 500 t). La plupart des pays membres du COI ont vu leur production augmenter durant cette période mais en particulier le groupe de pays suivants : Égypte, Turquie, Espagne, Algérie, Grèce, Argentine, Iran et Maroc dont les productions ont augmenté fortement (COI, 2017).

L'Espagne, est le premier producteur mondial d'olives de table. Ce pays avec ses 2 millions d'hectares d'oliviers a participé avec 68,8 % à la production mondiale. La production espagnole chaque année s'élève entre 400 000 et 600 000 tonnes d'olives de table

La consommation mondiale d'olives de table a augmenté de 182 % au cours de la période 1990/91 à 2016/17 (COI, 2017).

V.1. Production d'olives de table en Algérie :

Durant ces dernières années, la production algérienne en olives de table est estimée à (168 500 t), avec une superficie de 288 442 ha occupée par l'olivier. Actuellement, cette filière se concentre dans l'ouest du pays. Béjaia (50 000 ha), occupe 18% de la superficie totale occupée par les oliviers en Algérie (CAB, 2010).

Durant la campagne 2016/2017, la production oléicole Algérienne est estimée à 234 000 tonnes soit 8,6% de la production mondiale (COI, 2017).

Tableau III : Marché algérien d'olives de tables (x 1.000 tonnes) de 2012 à 2017 (COI, 2017).

Compagne	Production	Consommation	Exportation	Importation
2012/2013	175.0	172.0	0.0	12.0
2013/2014	208.0	205.0	0.0	8.0
2014/2015	233.5	240.0	0.0	0.0
2015/2016	233.0	242.0	0.0	8.5
2016/2017	234.0	244.0	0.0	0.0

Chapitre 2

La feuille d'olivier

I. Description de la feuille d'olivier

Les feuilles d'olivier ont un certain nombre de fonctions, y compris la photosynthèse et la transpiration. Elles sont relativement petites et vert foncé sur leur partie supérieure (côté adaxial) et gris-vert sur leur face inférieure (côté abaxial). Elles ont un revêtement protecteur (la cuticule) et leur surface inférieure a des pores spécialisés, les stomates, intercalés entre les poils de chevauchement qui modulent la transpiration et la perte d'eau. Les feuilles d'olivier peuvent également absorber de l'eau et des nutriments (la base des pulvérisations foliaires) et perdre des nutriments par lessivage par la pluie et la rosée. Les vieilles feuilles sénescents prennent une couleur jaune vif avant de tomber (**Kailis et Harris, 2007**).

La production des feuilles d'olivier est estimée de 25 kilogrammes par olivier (**Boudhrioua et al., 2008**).

II. Composés phénoliques de la feuille d'olivier

La composition phénolique des feuilles d'olivier varie en fonction de nombreux facteurs : la variété, conditions climatiques, âge des plantations ainsi que l'époque de récolte (**Nefzaoui, 1995**).

Les composés phénoliques ou polyphénols sont définis comme métabolites secondaires dérivés du pentose phosphate, issus de la voie de shikimate, et les voies phénylpropanoïdes chez les plantes. Ces composés, sont l'un des groupes de composés phytochimiques les plus répandus, ils ont une importance physiologique et morphologique chez les plantes, et présentent un intérêt considérable pour l'alimentation humaine en raison de leurs propriétés antioxydantes. Structurellement, malgré leur extrême variété, les polyphénols possèdent un bloc de construction de squelette carboné: l'unité phénylpropanoïde C6-C3. La biosynthèse par cette voie conduit à une large gamme de phénols végétaux: acides cinnamiques (C6-C3), acides benzoïques (C6-C1), flavonoïdes (C6-C3-C6), proanthocyanidines [(C6-C3-C6) n], coumarines (C6-C3), stilbènes (C6-C2-C6), les lignanes (C6-C3-C3-C6) et les lignines [(C6-C3) n] (**Talhaoui et al., 2015**).

Les feuilles d'olivier contiennent une grande variété de dérivés phénoliques et consiste en phénols simples, les flavonoïdes (flavones, flavanones, flavonols, 3-flavanols), et secoiridoids (Tableau IV). L'hydroxytyrosol a été largement décrit comme l'un des principaux composants de phénols simples dans les feuilles l'olivier.

Tableau IV : Niveaux de concentration des principaux composés phénoliques dans les feuilles d'olivier (Talhoui *et al.*, 2015).

Classe	Composés phénoliques	mg/kg de la feuille sèche
Secoiridoids	Oleuropéine aglycone	170-280
	Oleuropéine glucoside	430-16,4×10 ³
	Demethyloleuropéine	1340-6380
	Oleuropéine	14,7-143,2×10 ³
	Ligstroside	600-3840
	Oleuroside	2010-7000
	Méthoxyoleuropéine	870-2190
	Oléoside	390
	sécologanoside	1820-3680
	Flavonoïdes	<u>Flavones</u>
Lutéoline		10,1-5600
Lutéoline glucoside		85,2-11,1×10 ³
Lutéoline diglucoside		0,0-121,4
Lutéoline rutinoside		67-2700
Apigénine		4,6-339,5
Glucoside d'apégénine		122,7-1261,3
Apigénine diglucoside		90-480
Apigénine rutinoside		7,3-1130
Diosmétine		Traces-350,8
Chrysoeriol-7-ogluconide		580-840
<u>Flavonols</u>		
Rutin		13,8-3500
Quercétine rutinoside		654-1210
Quercétine		
<u>Flavan-3-ols</u>		
Catéchine	0,8-64,2	
Phénols simples	Tyrosol	90-660
	Glucoside de tyrosol	860-1280
	Hydroxytyrosol	2,1-1120

Les flavonoïdes sont l'un des groupes les plus communs et les plus largement distribués des polyphénols des feuilles d'olivier et se composent de deux anneaux aromatiques liés par trois carbones forment habituellement un hétérocycle oxygéné. Il peut être présent sous forme aglycone (quercétine, apigénine, lutéoline, diosmétine) ou sous forme glycosylée

(quercétine-7-O-rutinoside, lutéoline-7-O-rutinoside, lutéoline-7-O-glucoside, lutéoline-5-O-glucoside). Cependant, les secoiridoïdes, qui sont une sous-classe d'iridoïdes (monoterpène dérivés avec un cycle iridane) dérivés du clivage de l'anneau de cyclopentane sur la liaison 7, 8 contenant des composés phénoliques est restreint à la famille Oleaceae et sont la principale famille de composés contenus dans les feuilles d'olivier. Parmi eux, l'oleuropéine est le composé phénolique principal dans les feuilles d'olivier. En plus de leur diversité, les composés phénoliques se trouvent dans les feuilles d'olivier à différents niveaux de concentration (Talhaoui *et al.*, 2015).

Le tableau IV regroupe la composition en phénols des feuilles d'olivier.

III. Utilisation traditionnelle des feuilles d'olivier en médecine

Des études épidémiologiques ont montré que l'alimentation méditerranéenne traditionnelle est associée à une faible incidence de maladies cardiovasculaires et certains cancers. Ces effets bénéfiques sur la santé humaine ont été attribués à la présence dans le régime méditerranéen d'antioxydants tels ; les composés phénoliques, caroténoïdes et tocophérols qui jouent un rôle important dans la prévention des maladies. La feuille d'olivier (Oleaceae) a été largement utilisée dans la médecine populaire pour la fièvre et d'autres maladies comme le paludisme. Les aliments d'olive comme l'huile d'olive et la feuille d'olive sont la principale source de composés phénoliques dans le régime méditerranéen, (Lee *et al.*, 2009).

Les feuilles d'olivier sont connues par leurs vertus bénéfiques pour la santé humaine, due à leurs richesses en composés phénoliques. Les principaux composants actifs de la feuille d'olivier sont connus : l'oleuropéine et ses dérivés tels que l'hydroxytyrosol et le tyrosol, ainsi que l'acide caféique, l'acide p-coumarique, l'acide vanillique, la vanilline, la lutéoline, la diosmétine, la rutine, la lutéoline-7-glucoside, l'apigénine-7-glucoside, et diosmétin-7-glucoside (Lee *et al.*, 2009 ; Erbay et Icier, 2009).

Ces composés possèdent, entre autres, des pouvoirs antioxydant, anticancéreux, antimicrobien qui les rendent très importants pour les domaines de la santé et l'industrie agroalimentaire.

IV. Les principaux composants de la feuille d'olivier et leur activité antioxydante

Les flavonoïdes, les phénols et les oleurosides de la feuille d'olivier ont été montrés pour posséder une activité antioxydante importante vers ces radicaux, qui est principalement basée sur les propriétés redox de leurs groupes hydroxyles phénoliques et les relations structurelles entre les différentes parties de leur structure chimique. Pour les flavonoïdes, trois groupes structurels sont importants pour déterminer leur piégeage radicalaire et / ou leur capacité antioxydante: la structure *O*-dihydroxy (catéchol) l'anneau B, qui confère une plus grande stabilité aux radicaux aroxyles; la double liaison 2,3 conjuguée à une fonction 4-oxo, responsable de la delocalisation d'électrons de l'anneau B et la présence des deux groupes 3- et 5-hydroxyle. Pour les oleurosides et les autres phénols présents dans la feuille d'olivier, c'est principalement la structure d'odihydroxy (catéchol) qui confère des propriétés antioxydantes à ces composés (Benavente-Garcia *et al.*, 2000).

IV.1. Activité thérapeutique

Les feuilles d'olivier ont trouvé une place dans la médecine populaire: traditionnellement, elles ont été utilisées pour traiter et prévenir l'hypertension, et pour leur effet hypoglycémique, leurs propriétés antiseptiques et diurétiques. Elles étaient autrefois utilisées pour combattre fièvres, à savoir dans le paludisme, mais cette utilisation a été abandonnée (Meirinhos *et al.*, 2005).

V.2. Activité anti-microbienne

Les extraits aqueux de feuilles d'olivier ont montré une activité antimicrobienne contre *B. cereus*, *B. subtilis*, *S. aureus* (Gram +), *E. coli*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae* (Gram -), *C. albicans* et *C. Neoformans* (champignons); suggérant une large activité antimicrobienne des extraits de feuilles d'olivier d'une manière dépendante de la concentration (Pereira *et al.*, 2007).

V.3. Activité antivirale

Il a été montré que l'extrait de feuilles d'olivier inhibe l'infectiosité *in vitro* du virus de la septicémie hémorragique virale, *Salmonid rhabdovirus*, et l'infection aiguë et la transmission de VIH-1 de cellule à cellule d'une manière dépendante de la dose (Abaza *et al.*, 2007).

V.4. Activité anticancéreuse

Les extraits de feuilles d'olivier, en particulier du cultivar *Gerbouï* Tunisien peuvent augmenter le traitement de la leucémie ou être utilisés pour la prévention de la leucémie en raison de leur capacité à induire la différenciation ou la mort des cellules hématopoïétiques immatures. cette constatation est d'autant plus significative, compte tenu de l'attention internationale accordée à la recherche de composés anticancéreux ou anticancéreux sûrs provenant de sources alimentaires (**Abaza *et al.*, 2007**).

Partie

Expérimentale

Matériel et méthodes

I. Présentation du matériel végétal

L'étude porte sur l'enrichissement des olives de table tournantes (violette) tailladées préparées au naturel en saumure. Les olives utilisées appartiennent à la variété *Azzeradj* qui provient de la région d'Amalou (Seddouk, Bejaia), elles sont récoltées durant le mois de Décembre 2017. L'enrichissement des olives s'est effectué avec les feuilles d'olivier de la même variété *Azzeradj*.

Tableau V : Les caractéristiques principales de la variété « *Azzeradj* » :

Variété « <i>Azzeradj</i> »	Caractéristiques
Forme	Allongée à la base arrondie et au sommet pointu, avec un mamelon ébauché.
Symétrie	Asymétrique
Couleur	Violette
Pulpe	Fine, moyennement épaisse, craquante et facile à se détacher du noyau
Rapport pulpe/noyau	8,39
Stade de maturité	Intermédiaire (tournant)

Après la récolte, les olives sont acheminées directement au laboratoire pour la confiserie. A la réception, les olives sont triées pour l'élimination de toutes les impuretés (feuilles, brindilles, débris de bois, olives abimées ou blessées), puis calibrées (les olives choisies sont de taille moyenne et de couleur violette, et lavées plusieurs fois à l'eau jusqu'à obtention d'une eau limpide.

Une quantité des olives est tailladée, en réalisant trois entailles avec une lame. L'ensemble des olives est ensaumuré (saumure à 10%) durant 55 jours.

L'enrichissement des olives a été effectué avec les feuilles d'olivier et l'extrait de poudre des feuilles.

Les feuilles sont séchées à l'air ambiant et à l'obscurité, puis sont broyées et tamisées. 2g de poudre sont extraits avec 10 ml d'eau distillée et 4 ml d'extrait sont additionnés à 300g d'olives.

Les échantillons obtenus seront désignés comme suite : **OF** : olives fraîches, **OT** : olives tailladées non enrichies, **OEF** : olives tailladées enrichies avec les feuilles d'olivier, **OEP** :

olives tailladées enrichies avec l'extrait de poudre de feuilles d'olivier. La poudre de feuilles d'olive est désignée :

Les figures ci-dessous présentent les échantillons préparés :



Figure 3 : Photographie des feuilles et de la poudre des feuilles d'olivier.

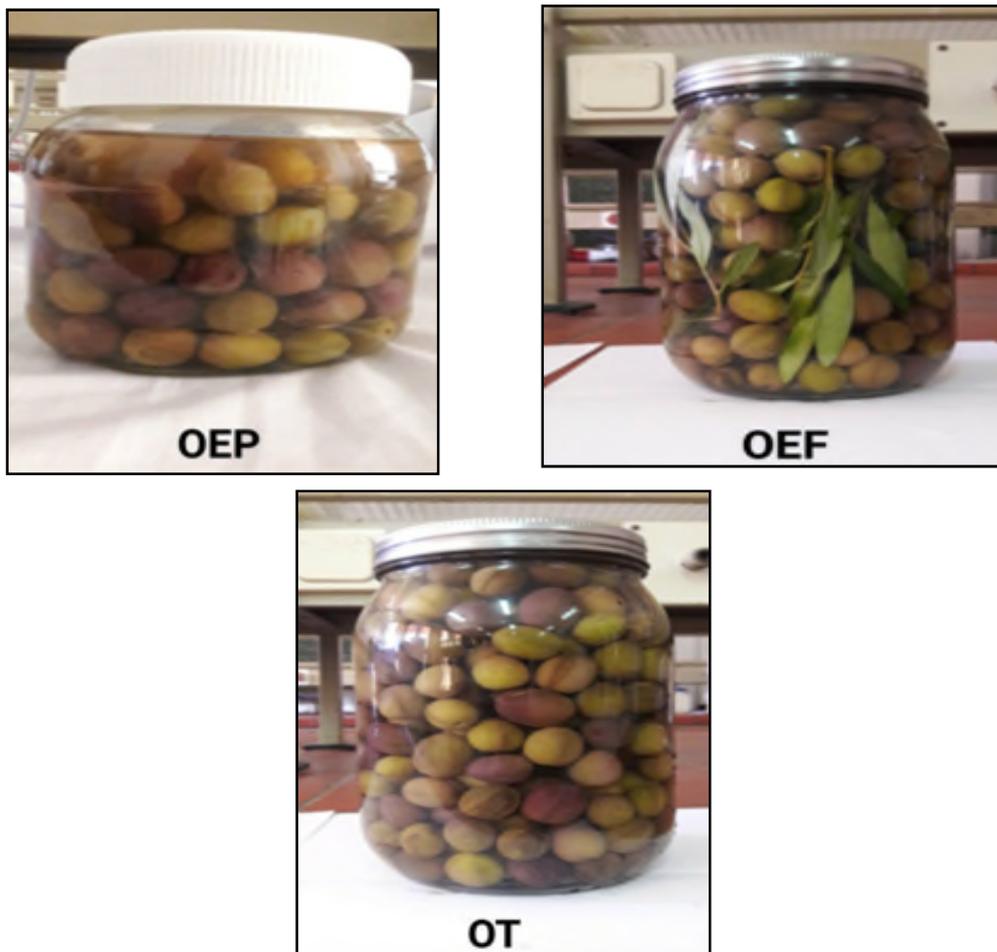


Figure 4 : Photographie des différents échantillons étudiés, olives tailladées enrichies avec l'extrait de poudre des feuilles d'olivier (OEP), olives tailladées enrichies avec les feuilles d'olivier (OEF), olives tailladées non enrichies (OT).

II. Analyses effectuées sur les olives

1. Test d'humidité :

Selon la méthode de **Tovar *et al.*, (2002)** qui consiste à sécher 5g de pulpe d'olive de chaque échantillon dans étuve à 105 °C pendant 48h jusqu'à poids constant. La formule ci-dessous permet d'exprimer les résultats en pourcentage de poids total :

$$H\% = [(P - P_s) / (P - P_0)] * 100$$

H% : humidité des fruits exprimée en pourcentage.

P : poids du creuset plus la prise d'essai avant séchage

P_s : poids du creuset plus la prise d'essai après séchage.

P₀ : poids du creuset vide.

2. Acidité titrable :

Selon **Garrido Fernandez *et al.*, (1997)**, le protocole consiste à macérer 1 g d'olives dans 2 ml d'eau puis le volume est ajusté à 10 ml. Après filtration, l'acidité est titrée avec une solution de soude (0,1N) en présence de quelques gouttes de phénolphthaléine (indicateur coloré). Le résultat est calculé selon la formule suivante, et l'acidité est exprimée en g d'acide lactique / 100g de pulpe d'olives.

$$A_t = (10/m) * V_1 * N_{NaOH} * (100/V_0)$$

A_t : Acidité titrable

m : Prise d'essai (g)

N : Normalité (mol/l)

V₀ : Volume en ml du prélèvement aliquote

V₁ : Volume en (ml) de la solution d'hydroxyde de sodium.

3. Dosage des sucres :

Les sucres réducteurs sont dosés par la méthode de **Miller (1959)** reprise par **Gonçalves *et al.*, (2010)**. Les sucres réduisent l'acide 2,3-dinitrosalicylique (DNS) en acide 3-

amino-5-nitrosalicylique, à chaud, le produit de la réaction en milieu basique développe une coloration jaune orangée avec un maximum d'absorption à 546 nm.

Une prise d'essai de 0,5 ml d'extrait méthanolique est additionnée à 0,5 ml du réactif de DNS. Le mélange est placé dans un bain-marie à 100° C pendant 5min, puis il est directement immergé dans une eau froide et glacée. 5ml de l'eau distillée sont ajoutées au mélange. Quand le mélange atteint la température ambiante, une lecture spectrophotométrique est effectuée dans le visible à une longueur d'onde de 540nm. L'absorbance est lue contre un blanc. Les résultats sont exprimés en g équivalent de glucose par kg de matière sèche.

4. Teneur en composés phénoliques

4.1 Préparation des extraits méthanoliques:

L'extraction des composés phénoliques est réalisée selon le protocole décrit par **McDonald *et al.*, (2001)**. Un équivalent de 5g de poids sec pour chaque échantillon (10,55g de matière fraîche pour les olives fraîches et 11,85 g pour les olives tailladées non enrichies et enrichies) est macéré et homogénéisé dans 25 ml de méthanol 80.

Après centrifugation (3000 rpm/5min), le culot subit une seconde extraction dans les mêmes conditions. Les extraits sont combinés et soumis à une délipidation à l'hexane (2 fois 25ml), puis filtrés.

4.2 Dosage des polyphénols totaux:

Le dosage des polyphénols se fait par la méthode de Folin-Ciocalteu. En milieu alcalin, les polyphénols réduisent le réactif de Folin-Ciocalteu en oxyde de tungstène et de molybdène de couleur bleue. L'intensité de cette couleur bleue renseigne sur le contenu en polyphénols totaux dans le mélange. Ces derniers présentent un maximum d'absorption à 760nm dont l'intensité est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans l'extrait (**Khadri *et al.*, 2013**).

Le dosage des polyphénols est effectuée selon le protocole décrit par **Borzillo *et al.*, (2000)** où 500 µl de réactif de Folin Ciocalteu sont ajoutées à 100 µl d'extrait méthanolique. Après 5min d'incubation dans l'obscurité et à température ambiante, 3ml de carbonate de sodium (Na₂CO₃) sont ajoutées au mélange. Ce dernier est ajusté avec de l'eau distillée jusqu'à 10 ml. Le mélange est centrifugé à 1500 tpm/15min, puis est incubé à l'obscurité pendant 30 min. Une lecture spectrophotométrique est effectuée à une longueur d'onde de 725

nm contre un blanc. Les résultats sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique par 100g du poids frais, en se référant à une courbe d'étalonnage (Annexe (a)).

4.3 Dosage des *ortho*-diphénols :

Le dosage des *Ortho*-diphénols est effectué selon le protocole décrit par **Bendini *et al.*, (2003)**. Une aliquote de 4ml d'extrait est additionnée à 1ml de la solution de molybdate de sodium di-hydraté 5% (Na_2MoO_4) préparée dans l'éthanol-eau 50%. Après une incubation de 15 min à l'obscurité, une lecture spectrophotométrique est effectuée à une longueur d'onde de 370nm contre un blanc, les résultats sont exprimés en mg équivalent d'acide caféique par 100g de poids frais, en se référant à une courbe d'étalonnage (Annexe (b)).

4.4 Dosage des flavonoïdes :

Selon le Protocol décrit par **Djeridane *et al.*, (2006)**, le dosage des flavonoïdes s'effectue en mélangeant 1,5ml d'extrait méthanolique avec 1,5 ml de chlorure d'aluminium AlCl_3 (2%). Une lecture spectrophotométrique est effectuée à une longueur d'onde de 430nm contre un blanc et les résultats sont exprimés en mg d'équivalent quercitine par 100g du poids frais, en se référant à une courbe d'étalonnage (Annexe (c)).

5. Activités antioxydantes

5.1 Pouvoir reducteur :

L'activité réductrice d'un extrait est évaluée par la réaction d'oxydoréduction entre l'extrait et les ions métalliques de transition, notamment le fer. Le ferricyanure de potassium $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ fournit des ions Fe^{3+} qui seront réduit en Fe^{2+} par les antioxydants présents dans l'extrait végétal (**Khadri *et al.*, 2013**).

Le pouvoir réducteur est déterminé selon la méthode décrite par **Zhan *et al.*, (2006)**. Qui consiste à additionner 1ml d'extrait méthanolique avec 2,5ml de tampon phosphate (0,2 M, pH 6,6) et avec 2,5ml de ferricyanure de potassium (1%). Le mélange est incubé à 50°C pendant 20min. Ensuite 2,5ml de l'acide trichloroacétique (TCA 10%) sont ajoutés, le mélange est centrifugé à 3600rpm/10min. 2,5ml du surnageant sont prélevé et additionnés de 2,5 ml d'eau distillée et 0,5ml de chlorure ferrique 0,1% (FeCl_3). Une lecture spectrophotométrique est effectuée dans le visible à une longueur d'onde de 700nm. L'absorbance est lue contre un blanc. Les résultats sont exprimés en mg équivalent BHA

(Butyl-Hydroxy-Anisol) par 100g du poids frais, en se référant à une courbe d'étalonnage (Annexe (e)).

5.2 Pouvoir anti-radicalaire :

L'activité anti-radicalaire est mesurée sur le DPPH : 1,1-diphényle-2-picrylhydrazyl, qui est un radical libre relativement stable. Cette décoloration explique le pouvoir de l'extrait à piéger ce radical, qu'on peut détecter par spectrophotomètre-UV.



Cette décoloration met en évidence le pouvoir antioxydant d'un échantillon par sa capacité à piéger le radical libre (**Khadri et al., 2013**).

Le protocole décrit par **Boskou et al., (2006)** a été adopté. Une prise d'essai de 0,5ml d'extrait est mélangée avec 2ml d'une solution méthanolique de DPPH, et mis à l'obscurité pendant 30 min. Une lecture spectrophotométrique est effectuée à une longueur d'onde de 517nm en se référant à un témoin sans extrait.

L'activité anti-radicalaire est estimée en mg d'équivalent α - tocophérol par 100g de matière fraîche (Annexe (d)).

Le pourcentage d'inhibition est calculé comme suit :

$$\text{AA} = \frac{A_t - A_0}{A_t} * 100$$

AA : l'activité anti-radicalaire (en % d'inhibition);

A_t : l'absorbance du témoin ;

A₀ : l'absorbance de l'échantillon.

L'étude de l'effet de la concentration de l'extrait sur le pouvoir antiradicalaire a été réalisée. La valeur IC₅₀ représente la concentration d'extrait donnant 50% d'inhibition du radical DPPH (**Boskou et al., 2006**).

6. Analyses microbiologiques

6.1 Préparation de l'inoculum :

Les tests des activités antibactériennes ont été réalisés sur des micro-organismes nuisibles couramment responsables de pathologies et d'altérations. Les germes étudiés ont été obtenus du laboratoire de microbiologie de la faculté des sciences de la nature et de la vie. Deux bactéries Gram négatif (*Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*) et une bactérie

Gram positif (*Staphylococcus aureus*). Une suspension bactérienne d'une absorbance de 0,08 à 0,1 a été préparée pour chaque souche.

Les bactéries étudiées sont représentées dans le tableau suivant :

Tableau VI : Les différentes bactéries étudiées :

Bactérie	Référence	Pathogénicité	Auteurs
<i>Staphylococcus aureus</i> <i>méticilline résistante</i> <i>SARM</i>	ATCC 43300	Infections neuro-méningées, septicémie.	Mena et Gerba (2009)
<i>Escherichia coli</i>	Resistance à l'acide nalidixique (NAR)	Gastro-entérites, infections urinaires, méningites, septicémies.	Nataro et Kaper (1998)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27853	Pneumonie nosocomiale, Infections urinaires, inflammation de la cornée et perte d'acuité visuelle.	Mena et Gerba (2009)

6.2 Préparation des extraits :

Les extraits méthanoliques sont séchés dans une étuve à 40°C pendant 24h à 48h, jusqu'à l'obtention d'un poids stable puis sont reconstitués dans l'eau.

6.3 Test d'aromatogramme :

Les différents échantillons étudiés (olives fraîches, olives tailladées, olives tailladées enrichis avec les feuilles d'olivier, olives enrichis avec l'extrait de poudre des feuilles d'olivier et l'extrait de poudre des feuilles d'olivier) sont examinés pour leur activité antimicrobienne contre *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus*. Cette évaluation a été déterminée par la technique de diffusion sur gélose décrite par **Djenane et al., (2012)**. 15 ml du milieu gélosé Mueller-Hinton en surfusion sont versés dans des boîtes de Pétri, puis laissées solidifiées et séchées à une température de 25 °C/30 minutes. 0,1 ml de la solution standardisée d'inoculum (0,08 à 0,1 d'absorbance) est versé dans chaque boîte puis uniformément répartie. Toutes les boîtes sont laissées séchées pendant cinq minutes. Des disques stériles en papier sont déposés au milieu de chaque boîte, les disques sont imprégnés respectivement avec 20µl d'extrait aqueux, les boîtes de pétri restent à la température ambiante pendant quelques minutes puis sont incubés dans une étuve à 37°C/24h. L'estimation de l'activité antibactérienne se fait par la mesure des zones claires (halos) qui se forme autour des disques à l'aide d'un pied à coulisse.

7. Analyse sensorielle

7.1 Jurys pour l'analyse sensorielle

On a fait appel à un jury de dégustation expert constitué de dix personnes, enseignants et travailleurs, formé et entraînés à l'évaluation sensorielle au sein de l'Université d'Abderrahmane MIRA de Bejaia

7.2 Code des échantillons

Les trois échantillons d'olives de table sont codés comme suite :

A : Olives de tables tailladées non enrichit.

B : Olives de table tailladées enrichit avec l'extrait de poudre des feuilles d'olivier.

C : Olives de table tailladées enrichit avec les feuilles d'olivier.

7.3 Evaluation sensorielle

Les olives élaborées ont été évaluées en utilisant un test descriptif dans lequel les principaux attributs de qualité des olives de table sont présentés. Les jurys experts indiquent l'évaluation sensorielle pour chaque attribut en utilisant une échelle de 1 à 5. Les attributs de qualité ont été divisés en quatre groupes correspondant aux : sensation olfactives (odeur, flaveur), attributs gustatifs (salinité, acidité, amertume, astringence), sensation kinesthésiques (fermeté) et aspects rhéologiques (détachement du noyau, croustillance ...) (**Aponte *et al.*, 2010**).

Dix jurys experts ont effectué l'analyse sensorielle des olives élaborées dans la salle de dégustation. 5 olives de chaque échantillon sont dégustées pour assurer la cohérence.

8. Analyse statistique

Pour chaque test, trois essais ont été réalisés. L'étude statistique consiste en une analyse de la variance (ANOVA) par le test de « Newman Keuls » en utilisant le logiciel STATISTICA 5.5 Fr. Le degré de signification des données est estimé à la probabilité $p < 0,05$. Une analyse de la composante principale (ACP) a été effectuée sur les résultats de l'analyse sensorielle, elle est réalisée avec le logiciel XLSTAT.

Résultats et discussions

I. Teneur en eau :

D'après l'analyse statistique, aucune différence significative n'est relevée entre les olives fraîches et les olives tailladées. La teneur en eau dans les olives tailladées est estimée à 57,78% et celle des olives fraîches à 52,46%.

La teneur en eau des olives fraîches se rapproche de la teneur en eau des olives fraîches des variétés turques « Memecik » (49,4%) et « Domat » (60,9%) étudiées par **Nergiz et Engez (2000)**.

Les olives élaborées (tailladées en saumure) présentent des teneurs en eau inférieures par rapport aux olives tournantes au naturel en saumure de la variété « Manzanilla » (68,0%) étudiée par **Romero et al., (2004)** et concordent avec celles publiées par **Mettouchi et al., (2016)** sur des olives de table tournantes au naturel en saumure de la variété *sigoise* de Ain-Defla (55,47%).

Les olives fraîches présentent des teneurs en eau similaires aux olives élaborées en raison des entailles réalisées qui provoquent la sortie de l'eau de la matrice vers la saumure en créant un équilibre entre les deux matrices.

II. Acidité libre :

L'analyse statistique a montré une différence significative ($p < 0,05$) entre les échantillons d'olives fraîches et d'olives tailladées. L'acidité titrable des olives tailladées (5 g d'acide lactique / 100g de pulpe d'olives) est supérieure à celle des olives fraîches (3,5 g d'acide lactique / 100g de pulpe d'olives). La mise en saumure des olives tailladées induit une fermentation des olives par la flore microbienne originelle des olives produisant l'acide lactique qui est responsable de cette augmentation de 30% de l'acidité.

III. Teneur en sucres réducteurs :

Les teneurs en sucres des olives fraîches (OF), des olives confites (OT, OEF, OEP) et de l'extrait de poudre de feuille (EPF) sont présentées dans la figure suivante :

Les résultats montrent que les teneurs en sucres varient entre les différents échantillons étudiés (olives fraîches, olives élaborées, et l'extrait de poudre de feuille). L'analyse statistique ne montre aucune différence significative entre les échantillons OT, OEF, OEP.

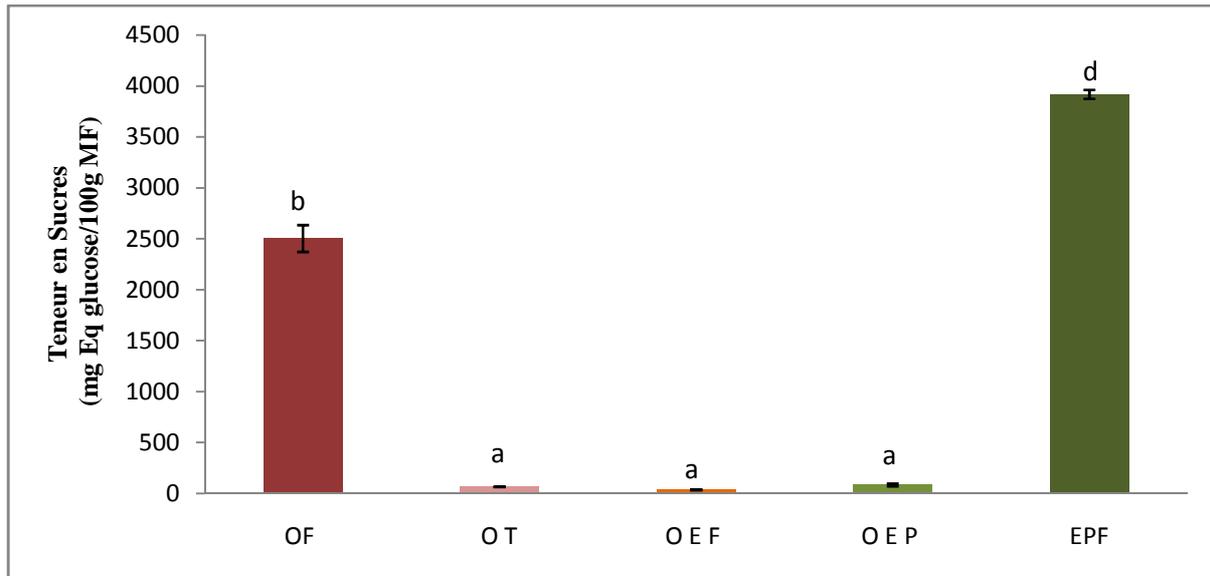


Figure 5 : Teneurs en sucres des différents échantillons analysés.

Des lettres différentes indiquent des différences significatives ($p < 0,05$)

D'après les résultats obtenus, l'EPF et les OF possèdent les teneurs les plus élevées en sucres réducteurs (3919,19mg/100gMF et 2504,45mg/100gMF, respectivement).

Après l'élaboration des olives tailladées, les teneurs en sucres réducteurs chutent d'une manière importante (97% de pertes) pour atteindre 68,19mg/100gMF. Ce résultat est comparable à ceux de **Kiai et Hafidi.,(2014)** qui ont estimé les pourcentages de pertes en sucres à 75,70% et 79,39% et pour les variétés *Gordal* et *Ascolana Marocaine*, respectivement.

Les olives enrichies avec l'extrait de poudre (OEP) présentent une teneur en sucres légèrement plus élevée (87,41 mg/100g MF) par rapport à celle des olives enrichies avec les feuilles (OEF) (39,68 mg/100g MF). Les taux en sucres réducteurs résiduels par rapport aux olives fraîches sont estimés comme suite est de 2,72% (OT), 3,49% (OEP), 1,58% (OEF). Ces taux sont en parfaite concordance avec ceux rapportés par **Poiana et Romeo., (2006)** sur des variétés d'olives Italiennes *Nocellaraetnea*, *Nocellaramessinese*, *Moresca*, *Ogliarola*, *Tondaiblea* qui ont été estimés en pourcentages comme suite 5,13%, 3,98%, 3,47%, 3% et 3,88%, respectivement.

Kiai et Hafidi., (2014) confirment par leurs travaux que la teneur en sucres a tendance à diminuer avec la progression de la fermentation lactique en parallèle à l'apparition d'autres composés comme l'acide lactique. Une forte corrélation est démontrée entre l'apparition de ce

dernier (acide lactique) et la consommation des sucres. Aussi, la diffusion des substrats fermentescibles (les sucres) dépend de divers paramètres tels que la perméabilité, la concentration en sel, le rapport fruits / saumure, la température et la variété (Garrido-Fernandez *et al.*, 1997).

IV. Les composés phénoliques :

1. Les polyphénols totaux :

Les teneurs en composés phénoliques des différents échantillons étudiés (OF, OT, OEF, OEP et EPF) sont représentés dans la figure ci-dessous :

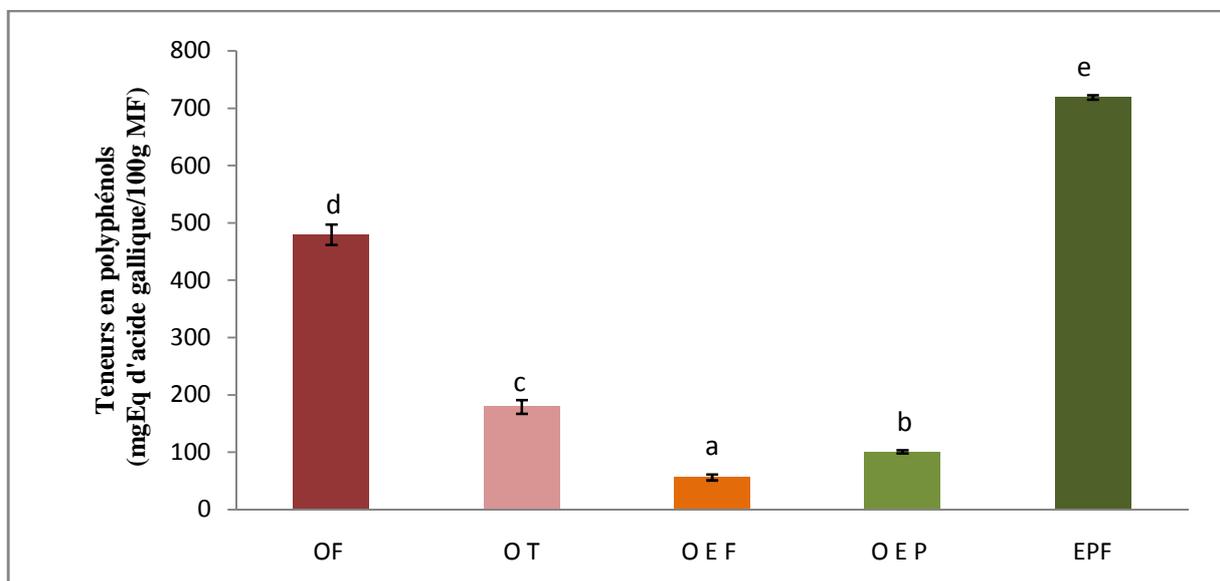


Figure 6 : Teneurs en composés phénoliques des échantillons étudiés.
Des lettres différentes indiquent des différences significatives ($p < 0,05$)

L'analyse statistique montre des différences significatives dans la teneur en polyphénols ($P < 0,05$) entre les différents échantillons analysés.

D'après les résultats obtenus, on constate que l'EPF et l'OF présente les teneurs les plus élevées en polyphénols totaux (718,86mg/100gMF et 479,43mg/100gMF respectivement). Par ailleurs, les olives élaborées tailladées présentent moins de la moitié de la teneur en polyphénols des olives fraîches et moins d'un tiers de la teneur en polyphénols de l'extrait de poudre des feuilles. Le pourcentage des pertes en polyphénols totaux des olives tailladées est estimé à 62,62% par rapport à l'olive fraîche. Le pourcentage de perte en polyphénols des olives enrichi avec la feuille et des olives enrichi avec l'extrait de poudre de feuilles est estimé à 68,68%, 43,80% respectivement par rapport aux olives tailladées.

La teneur en polyphénols des olives tailladées étudiées est inférieure à celle des olives de table tournantes en saumure «Negrinha de Freixo » (3000 mg/Kg MS) étudiées par **Pereira et al., (2006)**.

La teneur en polyphénols totaux des feuilles d'olivier de la variété *Chemlal*, (718,86mg/100g MF) sont largement plus élevées par rapport aux teneurs des feuilles d'oliviers retrouvées par **El et al., (2009)** (2,058 mg EAG/100g). Mais sont moins riches comparant aux feuilles d'olives étudiées par **Lee et al., (2009)** (148 mg/g EAT), récoltées dans la Nouvelle-Galles (Australie). Selon **El et al., (2009)**, La composition chimique des feuilles d'olivier varie selon plusieurs conditions telles que l'origine géographique, la proportion de branches sur l'arbre, les conditions de stockage, les conditions climatiques, la teneur en humidité et le degré de contamination avec le sol et les huiles.

Quant aux teneurs en polyphénols totaux des olives tailladées enrichies avec la feuille ou avec l'extrait de la feuille d'olivier, on remarque qu'elles sont inférieures à celles des olives de table de la variété « Kalamon » enrichie avec l'extrait de feuille (290mg Eq d'acide caféique/100g MF) étudiée par **Lalas et al., (2011)** ; soit, une augmentation de près de 50% de la teneur en polyphénols après enrichissement des olives. Dans cette même conjoncture, **Sevim et al. (2013)**, ont une augmentation de l'ordre de 7,76% de la teneur en polyphénols pour un taux de poudre de feuilles additionné de 3%.

Il est à noter, d'après les résultats obtenus, que les olives enrichies (avec les feuilles d'olivier ou avec l'extrait de poudre des feuilles) renferment des teneurs en polyphénols plus faibles que les olives tailladées non enrichies ; ce qui nous laisse penser que les entailles réalisées sur les olives ne favorise pas l'enrichissement des olives par aromatisation de la saumure. Dans cette conjoncture, **Othman et al., (2009)**, stipulent que le fait de taillader les olives ouvre les portes pour la sortie des composés phénoliques.

2. Les *ortho*-diphénols :

Les teneurs en *ortho*-diphénols obtenus pour les différents échantillons étudiés sont représentées dans la figure suivante :

Les résultats obtenus montrent que les teneurs en *ortho*-diphénols diffèrent significativement ($p < 0,05$) entre les échantillons. Néanmoins, aucune différence significative n'est enregistrée entre les olives tailladées et les olives enrichies OT, OEF.

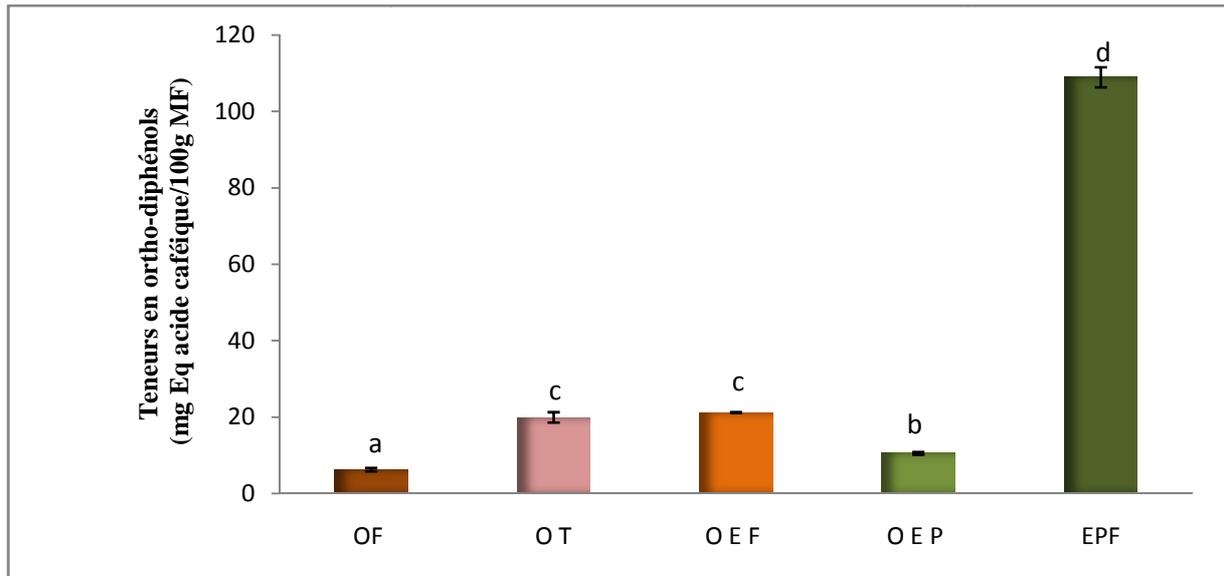


Figure7 : Teneurs en *ortho*-diphénols des différents échantillons étudiés.
Des lettres différentes indiquent des différences significatives ($p < 0,05$)

L'extrait de la poudre des feuilles présente la teneur la plus élevée en *ortho*-diphénols (102,86 mg d'EAC/100gMS), cette teneur étant 30 fois plus élevée que celle retrouvée dans les olives fraîches (3,01 mg d'EAC/100gMS).

Les résultats obtenus sont similaires à ceux publiés par **Brahmi et al., (2004)** (101,97 mg EAC/100g MS et 149,55 mg EAC/100g MS) pour les feuilles des variétés « chetoui » et « chemlali », respectivement cultivées en Tunisie.

Les teneurs en *ortho*-diphénols des olives élaborées tailladées (8,43mg/100gMS) sont largement inférieures aux olives tournantes au naturel en saumure de la variété *Sigoise* (Bejaia et Ain Defla) (70,44mg/100g MS et 261,09mg/100g MS, respectivement) (**Mettouchi et al., 2016**). Ce qui témoigne encore une fois de l'effet des entailles réalisées sur la perte en composés bioactifs.

D'après ces résultats, il s'avère que la teneur en *ortho*-diphénols n'est pas toujours proportionnelle à celle des polyphénols totaux. On remarque qu'après l'élaboration et l'enrichissement, les teneurs en *ortho*-diphénols augmentent de 68,21%, 70,14%, et 40,03%, respectivement, pour les échantillons OT, OEF, et OEP par rapport aux OF. Cela peut être expliqué par la prépondérance des *ortho*-diphénols dans les extraits phénoliques des olives tournantes et par l'enrichissement de ces olives par les composés *ortho*-diphénoliques apportés par les feuilles d'olivier ou l'extrait de la poudre de feuille. En effet, d'après **Lalas et al., (2011)** et **Guinda et al. (2015)**, les feuilles d'olivier présentent de fortes teneurs en *ortho*-

diphénols, notamment l'oleuropéine (Prés de 56% de la fraction phénolique) et l'hydroxytyrosol. Les olives tailladées présentent des teneurs en ces composés plus élevées que les olives fraîches. En effet, **Blekaset al., (2002)** ont rapporté que l'ensauimage des olives, hydrolyse les liaisons esters des composés phénoliques complexes par voie biologique suite à l'action des β -glucosidases produites par les bactéries lactiques libérant des composés polaires et facilement diffusibles comme les *ortho*-diphénols simples (**Soler-Rivas et al., 2000 ; Blekas et al.,2002 ;Mafra,2006**).

3. Les flavonoïdes :

Les résultats de quantification des flavonoïdes des différents échantillons étudiés sont illustrés dans la figure ci-dessous :

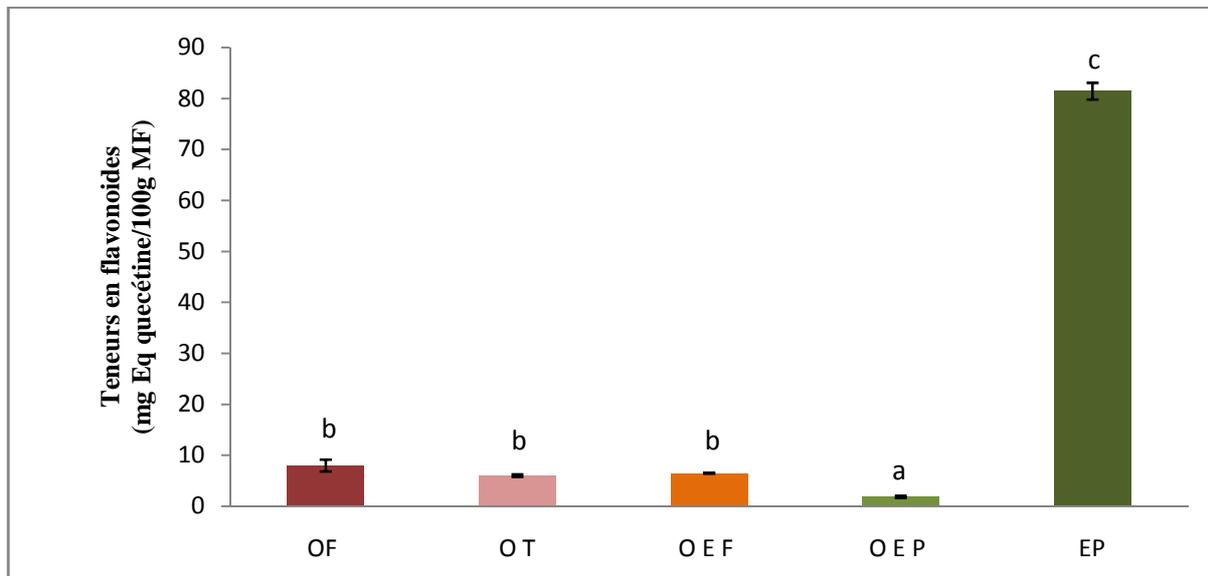


Figure 8 : Teneurs en flavonoïdes des différents échantillons étudiés.

Des lettres différentes indiquent des différences significatives ($p < 0,05$)

D'après les résultats de l'analyse statistique, aucune différence significative n'est relevée entre les échantillons OF, OT, OEF.

D'après les résultats obtenus après le dosage des flavonoïdes des olives de table tournantes 'OT' (6,02 mg/100g MF), on remarque qu'elles présentent des teneurs en flavonoïdes inférieures par rapport aux olives de table tournantes de la variété *sigoise* de Béjaia et *sigoise* de Ain-Defla (54,31mg/100g MS et 71,03mg/100g MS respectivement),

élaborées au naturel en saumure étudiées par **Mettouchi et al. (2016)** ; ce qui témoigne, encore une fois de l'effet du procédé sur la perte en flavonoïdes.

Les résultats obtenus indiquent que l'extrait de poudre de feuille possède la teneur la plus élevée en flavonoïdes (81,42mg/100gMF) mais que l'OEP possède la teneur la plus faible (1,81 mg/100g MF) en flavonoïdes. L'enrichissement des olives avec les flavonoïdes des feuilles d'olivier n'a pas pu se faire, en raison probablement de la fuite de ces composés vers la saumure.

En outre, relativement aux résultats du dosage, on remarque que l'EPF est moins riche par rapport aux feuilles d'olivier (858mg Eq d'acide cathéchique/100g) étudiées par **Karakaya et al., (2009)** et aux feuilles d'olivier récoltées dans la nouvelle-Galles du sud, Australie (58 mg/g) étudiées par **Hwan et al., (2009)**. Ces résultats peuvent expliquer le faible effet d'enrichissement en flavonoïdes des olives constaté.

V. Evaluation de l'activité antioxydante :

V.1. Activité anti-radicalaire :

L'activité anti-radicalaire des olives fraîches (OF), des olives confites (OT, OEF, OEP) et de l'extrait de poudre de feuille (EPF) est exposée dans la figure ci-dessous :

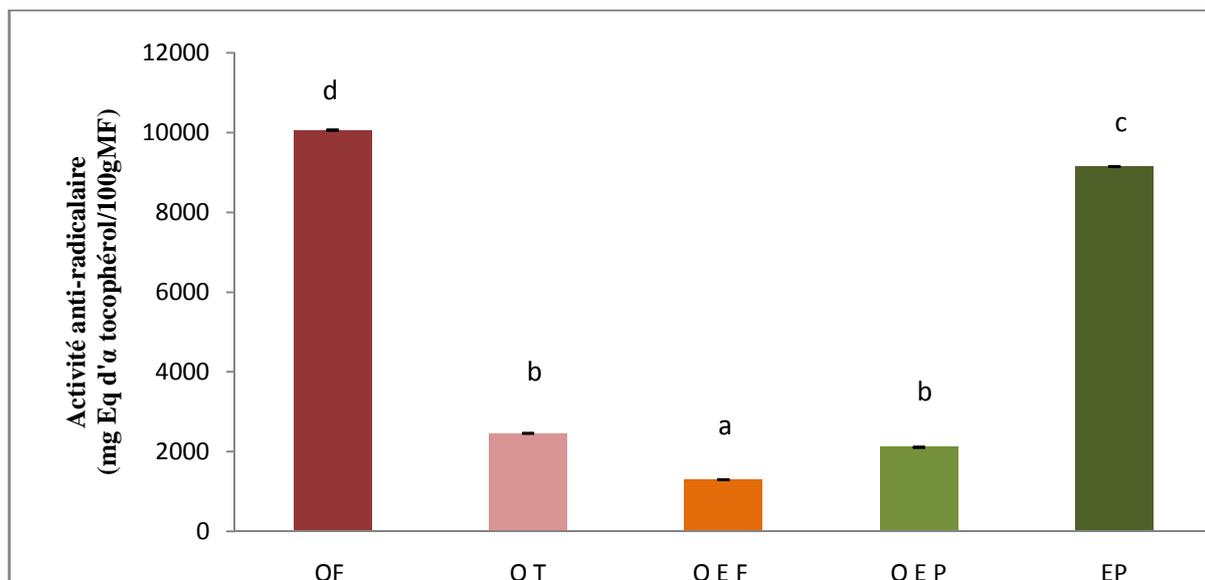


Figure 9 : Pouvoir anti-radicalaire des olives des différents échantillons étudiés.

Des lettres différentes indiquent des différences significatives ($p < 0.05$)

Les résultats montrent que les échantillons analysés possèdent une capacité à piéger le radical DPPH. D'après l'analyse statistique cette capacité diffère significativement ($P < 0,05$) entre les échantillons OF, OT, OEF, OEP et EPF, mais aucune différence significative n'est enregistrée entre les échantillons OT et OEP.

L'étude de l'effet de la concentration des extraits sur l'activité anti-radicalaire a permis de calculer les valeurs IC_{50} suivantes :

Tableau VII : Valeurs IC_{50} des différents échantillons

Echantillon	IC_{50} (mg/ml)
OF	1,97
OT	8,018
OEF	8,84
OEP	8,474
EPF	3,32

Les entailles réalisées sur les olives ont provoqué une diminution de l'activité anti-radicalaire des extraits. Cette diminution est estimée à 75,56% pour les olives tailladées (OT), en parallèle à une augmentation de huit fois de la valeur IC_{50} . L'enrichissement a également causé une diminution de l'activité antiradicalaire évaluée à 47,16% pour les olives enrichis avec la feuille d'olivier (OEF) par rapport aux olives tailladées (OT), et à 14,17% pour les olives enrichis avec l'extrait de poudre des feuilles (OEP).

Il apparaît clairement d'après ces résultats que l'enrichissement n'a pas eu d'effet positif sur la capacité anti-radicalaire des olives tailladées, mais que cette activité s'est trouvée réduite fortement après enrichissement, ce qui peut s'expliquer par un possible encombrement stérique des composés actifs après enrichissement avec les feuilles (également dotées d'une grande activité anti-radicalaire). Aussi, en comparant les résultats obtenus sur l'extrait de poudre de feuille ($IC_{50} = 3,32$ mg/ml) à ceux retrouvés par **Xie et al., (2015)** sur des feuilles d'olivier de variétés Chinoises (0,8 mg/ml) il apparaît clairement que l'enrichissement ne sera pas aussi efficace.

Une corrélation significative ($p < 0,05$) est constatée entre l'activité anti-radicalaire et les teneurs en polyphénols totaux ($r = 0,93$) par contre, une faible corrélation est constatée avec les teneurs en flavonoïdes ($r = 0,58$) ainsi qu'avec les teneurs en *ortho*-diphénols ($r = 0,45$).

V.2. Pouvoir réducteur :

Le pouvoir réducteur des échantillons analysés sont rapportés dans la figure qui suit :

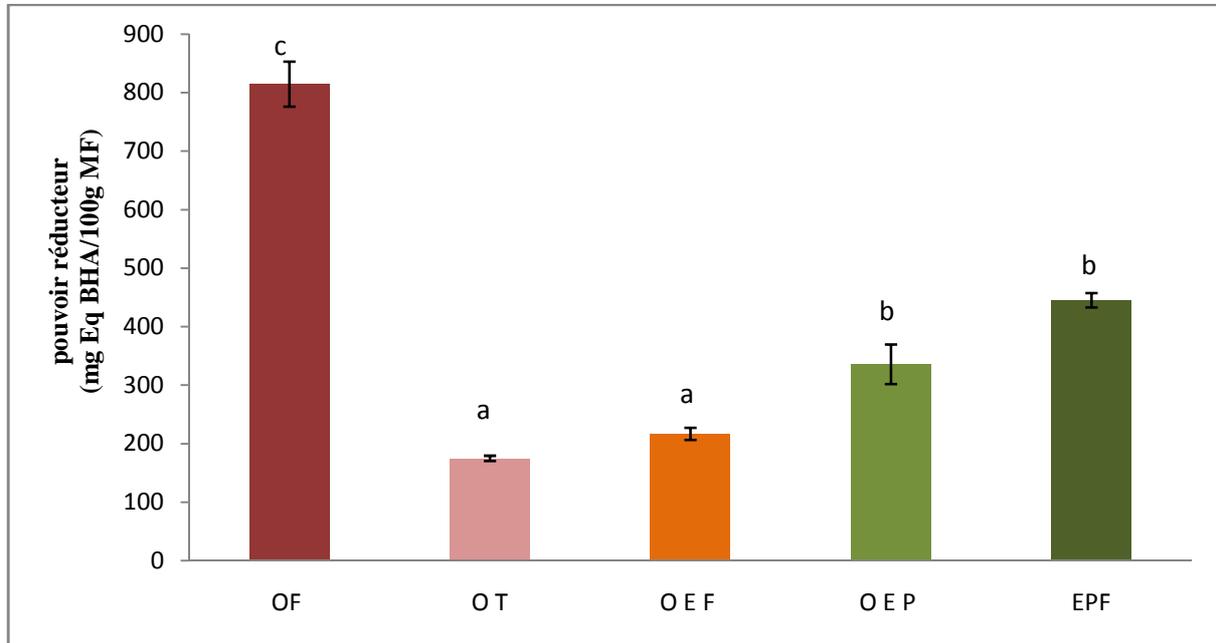


Figure 10 : Pouvoir réducteur des différents échantillons étudiés.

Des lettres différentes indiquent des différences significatives ($p < 0,05$)

L'étude statistique montre des différences significatives ($P < 0,05$) ne montre aucune différence significative entre les OT, OEF et entre les OEP et EPF.

Les résultats obtenus montrent que l'OF exerce la capacité réductrice la plus élevée (814,45mg/100gMF). Après élaboration, on estime la perte en capacité réductrice à 78,54% et donc une activité réductrice des olives tailladées estimée à seulement 174,79mg/100gMF. Par conséquent, le faible pouvoir de l'échantillon (OT) est dû aux entailles effectuées au niveau des olives qui sont des portes ouvertes pour la sortie des antioxydants.

L'EPF est performant avec une activité réductrice estimée à 444,98mg/100gMF, jouant ainsi un rôle important dans l'enrichissement des olives tailladées en permettant de rehausser le pouvoir réducteur de 19,35% avec un enrichissement avec les feuilles d'olivier et de 47,96%, avec un enrichissement avec l'extrait de poudre de feuille.

Le pouvoir réducteur en équivalent BHA présente une corrélation significative vis-à-vis des polyphénols totaux ($r=0,61$). Et non significative vis-à-vis des *ortho*-diphénols et flavonoïdes ($r=0,13$, $r=-0,02$).

VI. Evaluation de l'activité antibactérienne

L'activité antibactérienne se manifeste par l'apparition d'un halo d'inhibition de la croissance microbienne autour du disque contenant l'extrait à tester, cette activité est exprimée par le diamètre de la zone d'inhibition.

Les activités antimicrobiennes des différents extraits étudiés vis-à-vis des trois souches pathogènes associés aux intoxications d'origine alimentaire (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus*) ont été évaluées par la présence ou l'absence des zones d'inhibition.

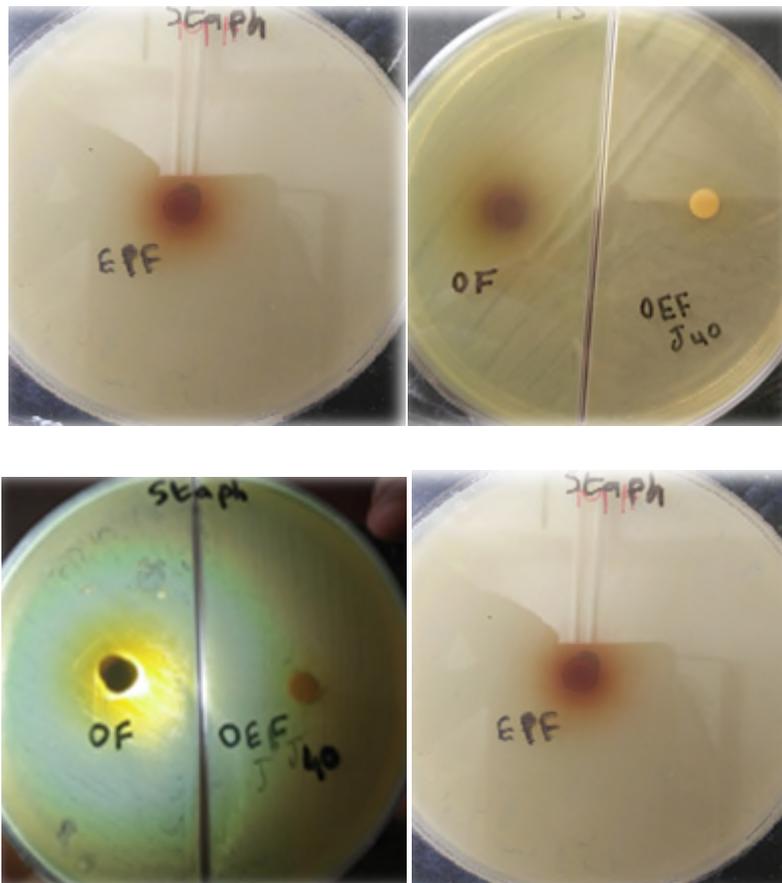


Figure 11 : Photographie des boîtes de pétries montrent les zones d'inhibitions des différents extraits vis-à-vis des différentes souches étudiées.

Les résultats sont regroupés dans le tableau ci-dessous :

Tableau VIII : Activité antimicrobienne des différents échantillons étudiés

Echantillons	E.coli	S.aureus	P.aeruginosa
OF	+++ (8.72mm)	+++ (7.72mm)	+++ (7.82mm)
OT	-	-	-
OEF	-	-	-
OEP	-	-	-
EPF	-	+++ (8.02mm)	-

Absence d'activité antimicrobienne : zone d'inhibition < 1mm (-), activité antimicrobienne légère (+), zone d'inhibition 2-3mm/ activité antimicrobienne modérée (++) , zone d'inhibition 4-5mm/ activité antimicrobienne élevée (+++), zone d'inhibition 6-9mm/ forte activité antimicrobienne (++++), zone d'inhibition > 9mm.

Selon les résultats représentés dans le tableau, on remarque que les olives fraîches présentent une activité antimicrobienne élevée vis-à-vis des espèces *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus*, les diamètres d'inhibition sont de 8,72mm, 7,82mm et 7,72mm respectivement. Par contre, les olives élaborées ne présentent aucune activité vis à vis des trois souches étudiées. Les extraits d'olives tournantes naturelles en saumure étudiés par **Pereira et al., (2006)** présentent des inhibitions de croissance considérables contre *Pseudomonas aeruginosa* (++) et *Escherichia coli* (++++) mais aucune zone n'est remarquée contre *Staphylococcus aureus*.

Et on remarque aussi que l'EPF ne présente une activité antimicrobienne que vis-à-vis de *Staphylococcus aureus*, aucune activité n'est observée contre les deux autres souches. Ces résultats ne concordent pas ceux de **Pereira et al., (2007)**, qui ont noté que les extraits de feuilles d'olivier présentent une capacité antimicrobienne remarquable contre les mêmes espèces, à savoir *E.coli*, *S.aureus* et *P.aeruginosa*. Aussi, **ŞİMŞEK et al. (2017)** ont montré que l'EPF est une source prometteuse en composés antimicrobiens.

D'une manière générale, la capacité antimicrobienne des composés phénoliques est bien connue (**Pereira et al., 2007 ; Sousa et al., 2006**).

L'absence de zone d'inhibition n'indique pas automatiquement l'absence d'une activité, mais pourrait être due aux faibles concentrations de l'extrait. D'après **Nychas *et al.* (1990)** et **Sousa *et al.* (2006)**, l'activité ainsi que le mode d'action des polyphénols dépendent de leur concentration. Par ailleurs, selon **Klančnik *et al.* (2010)**, un faible effet inhibiteur observé avec la technique de diffusion ne signifie pas nécessairement l'inactivité des extraits, mais leur caractère hydrophobe empêche leur diffusion uniforme dans les milieux à base d'agar.

VII. Evaluation de l'analyse sensorielle

1. Caractérisation des produits

Cette analyse permet d'identifier et de caractériser les descripteurs qui discriminent le mieux les échantillons et de déterminer les caractéristiques principales de ces derniers en fonction des préférences des membres d'un jury expert. Quand les barres apparaissent en bleu le descripteur est apprécié, en rouge, ça signifie que le descripteur est non apprécié et quand c'est en blanc cela signifie que le descripteur n'a pas été détecté (**Husson et Pagès., 2009**).

1.1. Pouvoir discriminant par descripteurs

Il permet d'afficher les descripteurs ordonnés du plus discriminant au moins discriminant sur les différents échantillons d'olives de table (olives tailladées non enrichit, olives tailladées enrichit avec la feuille, olives tailladées enrichit avec l'extrait de poudre de feuille d'olivier).

La figure ci-dessous représente les résultats obtenus pour le pouvoir discriminant de chaque descripteur :

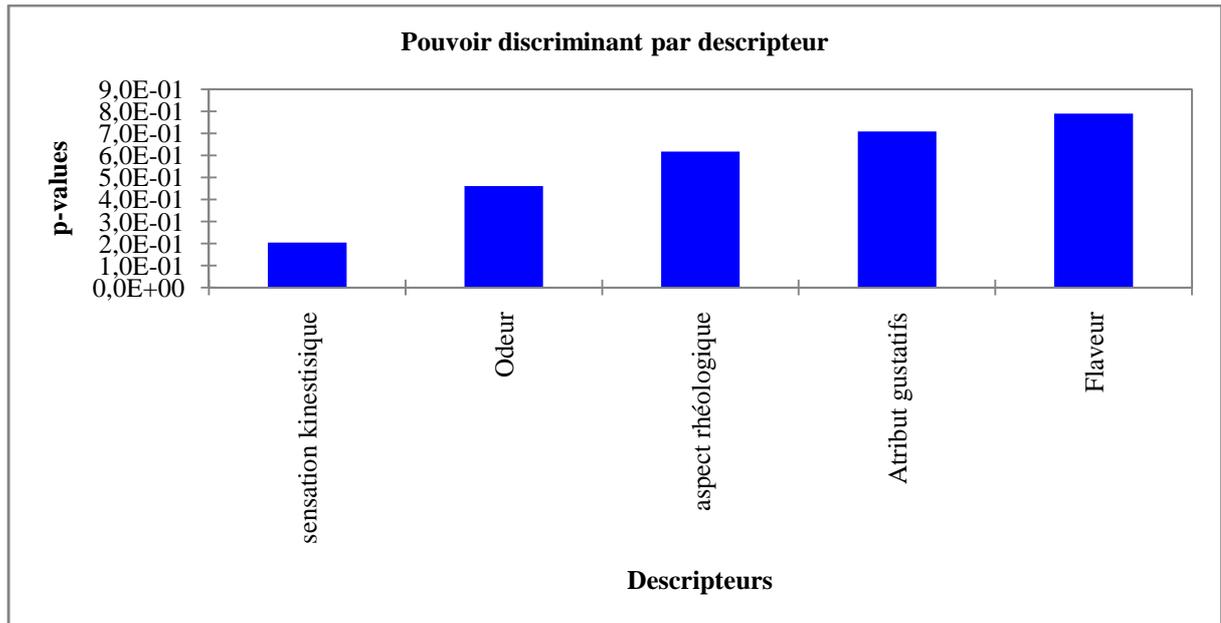


Figure 12 : Pouvoir discriminant par descripteurs.

D’après les résultats montrés par le graphe, on constate que les sensations kinesthésiques et l’odeur possèdent le pouvoir discriminant le plus fort sur les trois échantillons ce qui veut dire que les sujets experts ont relevé des différences dans l’odeur et les sensations kinesthésiques des échantillons.

Les descripteurs aspects rhéologique et attributs gustatifs possèdent un pouvoir discriminant faible, toutefois le descripteur « flaveur » est celui qui possède le pouvoir discriminant le plus faible. On constate alors que les experts n’ont pas distingué de divergences dans ces descripteurs entre les échantillons.

1.2. Coefficient des modèles

Dans ce test, des résultats du traitement des données effectuées pour chaque combinaison descripteurs-produit (le coefficient, la moyenne estimée la p-value ainsi qu’un intervalle de confiance sur le coefficient) sont affichés.

Les figures suivantes présentent les résultats des coefficients des modèles :

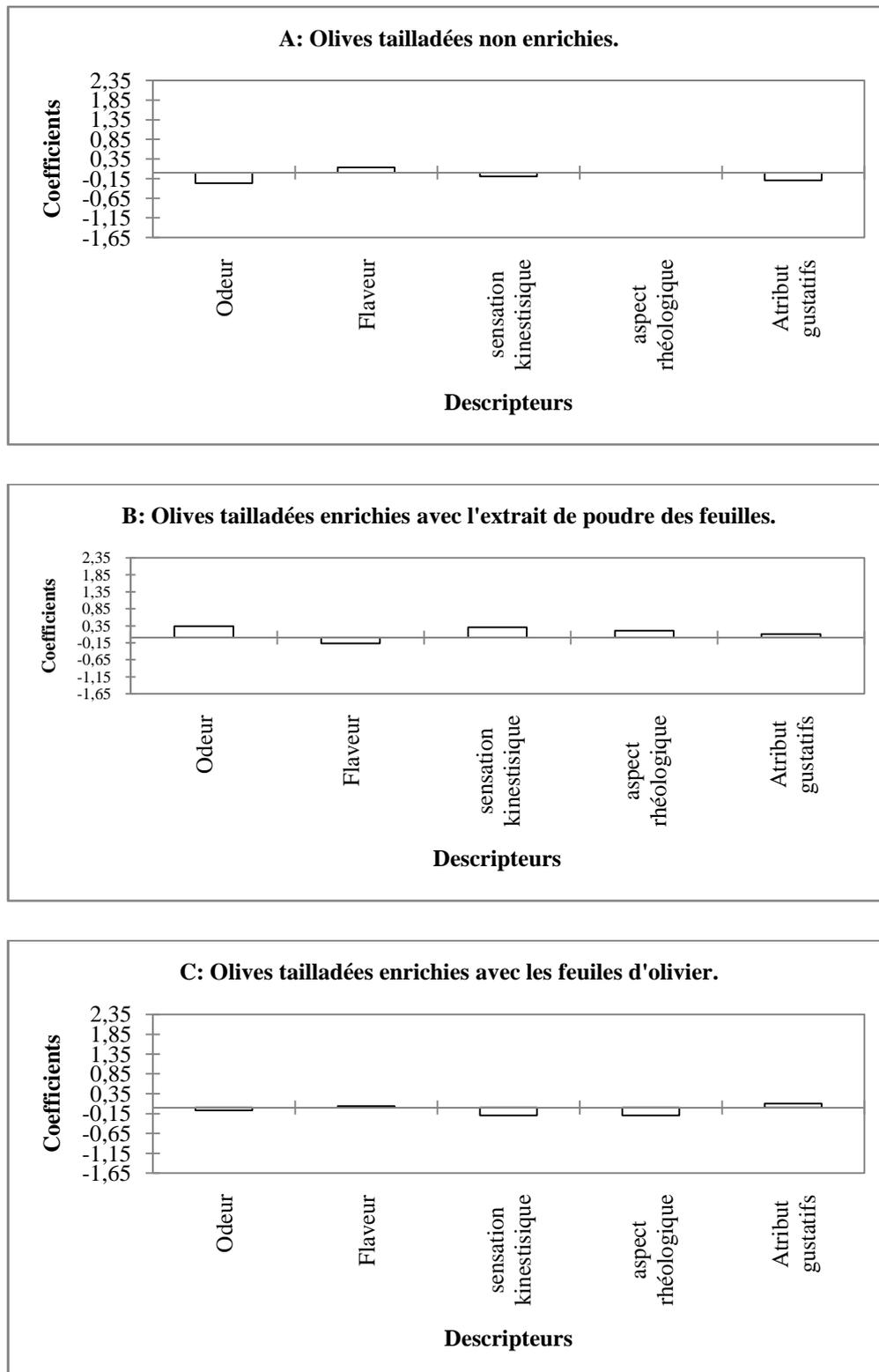


Figure 13 : Coefficient des modèles d'échantillons des olives de table.

Les graphiques de la figure précédente montrent que toutes les caractéristiques des 3 échantillons sont proches de la moyenne des notes données par les jurys. Donc les caractéristiques sont ni faiblement intenses ni fortement intenses.

Toutes les barres empilées sont en blanc, ce qui révèle que les coefficients des caractéristiques ne sont pas significatifs. Aucun descripteur de ces trois échantillons n'est caractérisé par les experts.

2. Paramètres d'analyse en composantes principales (ACP)

L'Analyse en Composantes Principales (ACP) est une méthode très efficace pour l'analyse de données quantitatives (continues ou discrètes) se présentant sous la forme de tableaux à M observations / N variables. Elle permet de :

- visualiser et analyser rapidement les corrélations entre les N variables,
- visualiser et analyser les M observations initialement décrites par N variables sur un graphique à deux ou trois dimensions, construit de manière à ce que la dispersion entre les données soit aussi bien préservée que possible,
- construire un ensemble de P facteurs non corrélés

Les limites de l'Analyse en Composantes Principales viennent du fait que c'est une méthode de projection, et que la perte d'information induite par la projection peut entraîner des interprétations erronées.

La figure qui suit présente les corrélations entre les variables et les facteurs par l'ACP :

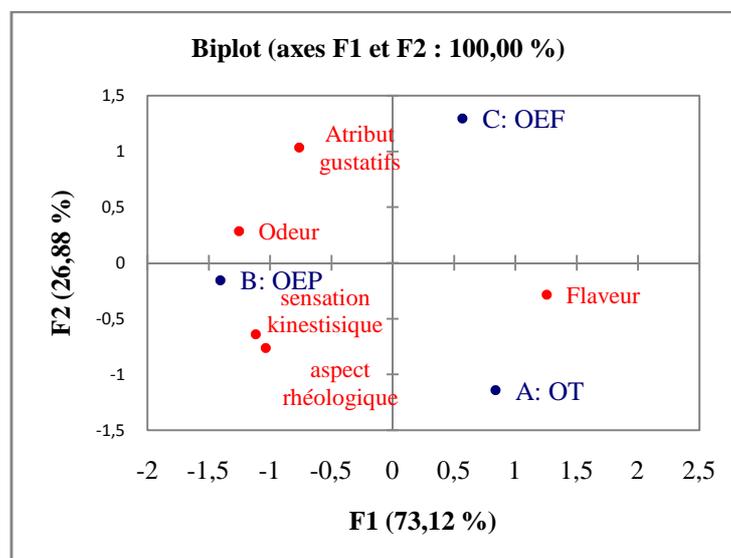


Figure 14 :Corrélation entre les variables et les facteurs.

La carte obtenue montre que l'échantillon A est plus caractérisé par la flaveur, l'échantillon B est plus caractérisé par les sensations kinestisiques, l'odeur et les aspects rhéologiques et que l'échantillon C est plus caractérisé par les aspects gustatifs.

3. Classification ascendante hiérarchique (CAH)

C'est une méthode de classification, ces résultats permettent de visualiser le groupement progressif des données. On peut alors se faire une idée sur un nombre adéquat de classe dans lesquelles les données peuvent être regroupées (Everitt et Dunn., 2001).

Le profil des différentes classes créées est représenté dans le graphe ci-dessous :

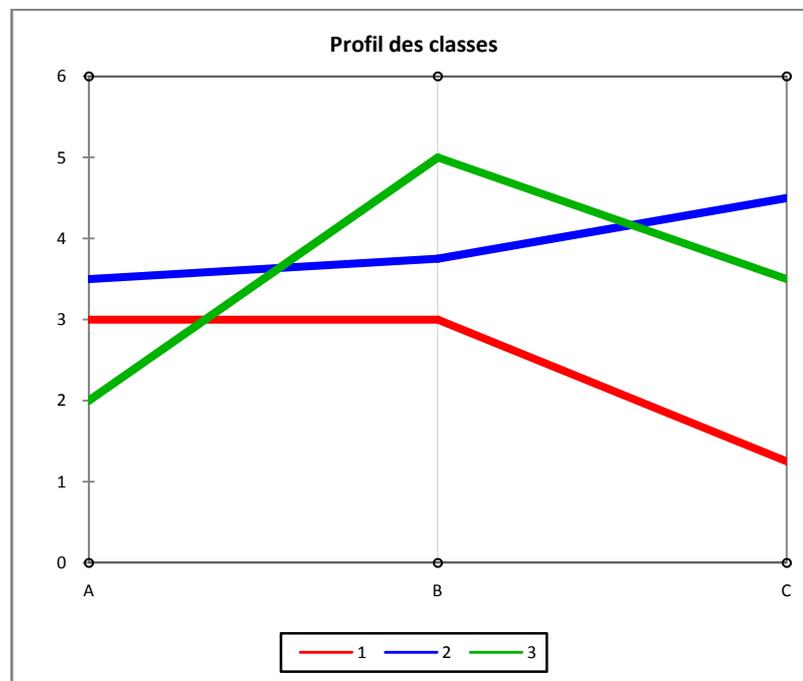


Figure 15 : Profil des différentes classes créées (classe 1 : rouge, classe 2 : bleu, classe 3 : vert).

Les différentes classes créées sont regroupées dans le tableau suivant :

Tableau IX : Les différentes classes de jury créées.

Classe	A	B	C
1	3,000	3,000	1,250
2	3,500	3,750	4,500

3 2,000 5,000 3,500

La figure précédente permet de visualiser et de comparer graphiquement les moyennes des trois classes générées par l'ACP.

La classe 1 préfère le produit A et B qui sont les olives tailladées non enrichis et les olives tailladées enrichis avec l'extrait de poudre de feuille. La classe 2 préfère beaucoup plus le produit C (olives tailladées enrichis avec la feuille).

La classe 3 préfèrent le produit B, et à partir de ces résultats, on remarque que le produit B est préféré par deux. De ce fait, le produit B (olives enrichit avec l'extrait de poudre de feuilles d'olivier) est le plus préféré par le membre de jury car ces résultats de préférence ne reflète pas forcément l'avis du consommateur, car l'analyse a été effectué par 10 membres du jury, et ces derniers ne représentent pas la population. La quantité insuffisante du produit nous a empêché de réaliser l'analyse hédonique.

*Conclusion et
perspectives*

Conclusion et perspectives

L'étude a pour but d'étudier l'effet de l'enrichissement sur l'activité biologique des olives de table tournantes tailladées en estimant l'activité anti-radicalaire, la capacité réductrice et l'activité antibactérienne.

Le procédé d'élaboration des olives tournantes tailladées de la variété *Azzeradj* entraîne des pertes importantes en composés phénoliques et en flavonoïdes. A l'opposé, la teneur en ortho- diphénols augmente de 68,21% après élaboration. L'enrichissement par les feuilles et par l'extrait de feuilles d'olivier a favorisé l'enrichissement des olives en *ortho*-diphénols pour lesquels une augmentation de 70,14% et 40,03%, respectivement de la teneur en *ortho*-diphénols a été constatée.

L'enrichissement avec l'extrait de poudre de feuilles d'olivier permet d'aboutir à des olives plus riches en polyphénols par rapport à un enrichissement direct avec les feuilles d'olivier, par contre la teneur en flavonoïdes et en *ortho*- diphénols est meilleure avec un enrichissement avec les feuilles d'olivier.

Les entailles réalisées sur les olives ont provoqué une diminution de 75,56% de l'activité anti-radicalaire des extraits et une augmentation de huit fois de la valeur IC₅₀.

Aussi, l'enrichissement n'a pas eu d'effet positif sur la capacité anti-radicalaire des olives tailladées, cette activité s'est trouvée fortement réduite après enrichissement. Par ailleurs, l'enrichissement avec l'extrait de poudre des feuilles paraît plus efficace par rapport à un enrichissement avec la feuille. L'activité réductrice des extraits a montré une augmentation après enrichissement avec l'extrait de poudre de feuille (19,35%) et avec un enrichissement avec l'extrait de poudre de feuille (47,96%),

Des corrélations significatives sont établies entre les teneurs en polyphénols totaux et les activités antiradicalaire et réductrice

L'évaluation de l'activité antibactérienne des échantillons par la méthode de diffusion sur gélose révèle que l'élaboration des olives tailladées et l'enrichissement par les feuilles d'olivier et l'extrait de feuilles d'olivier n'exercent aucun effet inhibiteur significatif sur la croissance des souches testées. Bien que l'extrait de poudre de feuille à montré une activité antibactérienne significative vis-à-vis des *S. aureus*.

L'analyse sensorielle réalisée pour les olives élaborés non enrichies, enrichies avec les feuilles d'olivier et enrichit avec l'extrait de poudre de feuilles d'olivier montre que les olives enrichit avec l'extrait de poudre de feuilles sont les plus appréciés par les membres de jury experts, cette préférence est motivé d'avantage par les attributs gustatifs.

Au terme de cette étude, il est à noter que l'idée de l'enrichissement des olives de table tailladées est une innovation dont on devait élargir la recherche car ces olives sont dotées en divers composés phénoliques doués d'une activité anti-oxydante. Cet extrait serait à recommander pour l'exploitation de nouvelles sources naturelles bioactives et leur adoption comme une alternative aux molécules synthétiques. Ces résultats restent partiels et d'autres travaux s'imposent, il serait intéressant de :

- ✓ faire un suivie de l'enrichissement au cours du temps ;
- ✓ analyser les autres substances antioxydantes (tocophérols, caroténoïdes).
- ✓ Tester d'autres concentrations de l'extrait de feuilles d'oliviers,
- ✓ Augmenter la concentration de l'extrait méthanolique des olives de table afin de mieux apprécier l'effet antibactérien.

*Références
bibliographiques*

Références bibliographiques

A

Abaza, L., Talorete, T. P., Yamada, P., Kurita, Y., Zarrouk, M., & Isoda, H. (2007). Induction of growth inhibition and differentiation of human leukemia HL-60 cells by a Tunisian gerboui olive leaf extract. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, 71(5), 1306-1312.

Amouretti, C. et comet, G. (2000). Le livre de l'olivier. Edisud,191.

Aponte, M., Ventrino, V., Blaiotta, G., Volpe, G., Farina, V., Avellone, G., ... & Moschetti, G. (2010). Study of green Sicilian table olive fermentations through microbiological, chemical and sensory analyses. *Food Microbiology*, 27(1), 162-170.

B

Benavente-García, O., Castillo, J., Lorente, J., Ortuno, A., & Del Rio, J. A. (2000). Antioxidant activity of phenolics extracted from *Olea europaea* L. leaves. *Food Chemistry*, 68(4), 457-462.

Bendini, A., Bonoli, M., Cerretani, L., Biguzzi, B., Lercker, G., & Toschi, T. G. (2003). Liquid-liquid and solid-phase extractions of phenols from virgin olive oil and their separation by chromatographic and electrophoretic methods. *Journal of Chromatography A*, 985(1-2), 425-433.

Benlemlih M. and Ghanem J. 2012. polyphénols d'huile d'olive Trésor santé. polyphénols aux actions anti-oxydantes, anti-inflammatoires, anticancéreuses, antiviellissement et protectrice cardiovasculaires, ISBN 978-2-87211-117-6.

Bianchi, G. (2003). Lipids and phenols in table olives. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 105(5), 229-242.

Blekas, G., Vassilakis, C., Harizanis, C., Tsimidou, M., & Boskou, D. G. (2002). Biophenols in table olives. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(13), 3688-3692.

Borzillo, A., Iannotta, N., & Uccella, N. (2000). Oinotria table olives: quality evaluation during ripening and processing by biomolecular components. *European Food Research and Technology*, 212(1), 113-121.

Boskou, G., FN Salta, S Chrysostomou, A Mylona, A Chiou, NK. Andrikopoulos. (2006). Antioxidant capacity and phenolic profile of table olives from the Greek market. *Food Chemistry* 94 :558–564

Boudhrioua, N., Bahloul, N., Slimen, I. B., & Kechaou, N. (2009). Comparison on the total phenol contents and the color of fresh and infrared dried olive leaves. *Industrial crops and products*, 29(2-3), 412-419.

Brahmi, F., Mechri, B., Dhibi, M., & Hammami, M. (2014). Variation in antioxidant activity and phenolic content in different organs of two Tunisian cultivars of *Olea europaea* L. *Acta physiologiae plantarum*, 36(1), 169-178.

Brenes Balbuena M., Garcia Garcia P.1 & Garrido Fernandez A. (1992). Phenolic compounds related to the black color formed during the processing of ripe olives. *Journal of agricultural Food Chemistry*, 40 : 1192-1196.

C

Chambre Agricole Bejaia 2009, 2010

Chemonies international, INC., 2007 Rapport à l'intention de l'agence américaine pour le développement international. Contrat n°608-M-00-000543-01.

Conseil Oléicole international. (2004).

Conseil Oléicole international. (2007).

Conseil Oléicole international. (décembre, 2017).

Conseil Oléicole international. (Jan, 2017).

D

Djenane, D., Yangüela, J., Derriche, F., Bouarab, L., & Roncales, P. (2012). Extrait de feuilles d'olivier; tests in vitro vis-à-vis de *Staphylococcus aureus*, *Salmonella Enteritidis* et *Pseudomonas aeruginosa*; application sur la viande de dinde. *Phytothérapie*, 10(1), 10-18.

Djeridane, A., Yousfi, M., Nadjemi, B., Boutassouna, D., Stocker, P., & Vidal, N. (2006). Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food chemistry*, 97(4), 654-660.

Duriez J.M. 2004. Code des bonnes pratiques loyales pour les olives de table. Association Francaise Interprofessionnelle de l'Olive pour la Fédération de l'Olive (France) : 1-39

E

El, S. N., & Karakaya, S. (2009). Olive tree (*Olea europaea*) leaves: potential beneficial effects on human health. *Nutrition reviews*, 67(11), 632-638.

Erbay, Z., & Icier, F. (2009). Optimization of hot air drying of olive leaves using response surface methodology. *Journal of Food Engineering*, 91(4), 533-541.

Everitt, B. S., & Dunn, G. (2001). *Applied multivariate data analysis* (Vol. 2). London: Arnold.

F

Fernández, A. G., Adams, M. R., & Fernández-Díez, M. J. (1997). *Table olives: production and processing*. Springer Science & Business Media.

Fernández, A. G., Adams, M. R., & Fernández-Díez, M. J. (1997). *Table olives: production and processing*. Springer Science & Business Media.

G

Ghanbari, R., Anwar, F., Alkharfy, K. M., Gilani, A. H., & Saari, N. (2012). Valuable nutrients and functional bioactives in different parts of olive (*Olea europaea* L.)—a review. *International journal of molecular sciences*, 13(3), 3291-3340.

Gómez, A. H. S., García, P. G., & Navarro, L. R. (2006). Elaboration of table olives. *Grasas y aceites*, 57(1), 86-94.

Gonçalves, C., Rodriguez-Jasso, R. M., Gomes, N., Teixeira, J. A., & Belo, I. (2010). Adaptation of dinitrosalicylic acid method to microtiter plates. *Analytical Methods*, 2(12), 2046-2048.

Guinda, Á., Castellano, J. M., Santos-Lozano, J. M., Delgado-Hervás, T., Gutiérrez-Adánez, P., & Rada, M. (2015). Determination of major bioactive compounds from olive leaf. *LWT-Food Science and Technology*, 64(1), 431-438.

H

Hennebelle T., Sahpaz S. and Bailleul F. 2004. Polyphenols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Physiotherapy*, 1 :2-5.

https://help.xlstat.com/customer/fr/portal/articles/2062222-analyse-en-composantes-principales-acp-avec-xlstat?b_id=9283.

HUSSON F., PAGÈS J. (2009). SensoMiner dans Evaluation sensorielle - Manuel méthodologique, 3ème éd. Lavoisier, vol. 23, p. 16.

K

Kailis, S., & Harris, D. J. (2007). *Producing table olives*. Landlinks press.

Khadri, S., Benedyk, R. D., & Nair, V. (2013). *U.S. Patent No. 8,520,828*. Washington, DC: U.S. Patent and Trademark Office.

Kiai, H., & Hafidi, A. (2014). Chemical composition changes in four green olive cultivars during spontaneous fermentation. *LWT-Food Science and Technology*, 57(2), 663-670.

Klančnik, A., Piskernik, S., Jeršek, B., & Možina, S. S. (2010). Evaluation of diffusion and dilution methods to determine the antibacterial activity of plant extracts. *Journal of microbiological methods*, 81(2), 121-126.

L

Lalas, S., Athanasiadis, V., Gortzi, O., Bounitsi, M., Giovanoudis, I., Tsaknis, J., & Bogiatzis, F. (2011). Enrichment of table olives with polyphenols extracted from olive leaves. *Food Chemistry*, 127(4), 1521-1525.

Lee, O. H., Lee, B. Y., Lee, J., Lee, H. B., Son, J. Y., Park, C. S., ... & Kim, Y. C. (2009). Assessment of phenolics-enriched extract and fractions of olive leaves and their antioxidant activities. *Bioresource Technology*, *100*(23), 6107-6113.

M

Mafra, C. R. (2006). Four-point one-loop amplitude computation in the pure spinor formalism. *Journal of High Energy Physics*, *2006*(01), 075.

McDonald, S., Prenzler, P. D., Antolovich, M., & Robards, K. (2001). Phenolic content and antioxidant activity of olive extracts. *Food chemistry*, *73*(1), 73-84.

Meirinhos, J., Silva, B. M., Valentão, P., Seabra, R. M., Pereira, J. A., Dias, A., ... & Ferreres, F. (2005). Analysis and quantification of flavonoidic compounds from Portuguese olive (*Olea europaea* L.) leaf cultivars. *Natural product research*, *19*(2), 189-195.

Mettouchi, S., Bey, M. B., Tamendjari, A., & Louaileche, H. (2016). Antioxidant Activity of Table Olives as Influenced by Processing Method. *International Journal of Chemical and Biomolecular Science*, *2*, 8-14.

Mettouchi, S., Sacchi, R., Moussa, Z. O., Paduano, A., Savarese, M., & Tamendjari, A. (2016). Effect of Spanish style processing on the phenolic compounds and antioxidant activity of Algerian green table olives. *Grasas y Aceites*, *67*(1), 114.

Miller, G. L. (1959). Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical chemistry*, *31*(3), 426-428.

N

Nefzaoui, A. (1995). Feeding value of Mediterranean ruminant feed resources. *Advanced course. Syria*, 12-23.

Nergiz, C., & Engez, Y. (2000). Compositional variation of olive fruit during ripening. *Food Chemistry*, *69*(1), 55-59

Nychas, G. J. E., Tassou, S. C., & Board, R. G. (1990). Phenolic extract from olives: inhibition of *Staphylococcus aureus*. *Letters in applied microbiology*, *10*(5), 217-220.

O

Othman, N. B., Roblain, D., Chammen, N., Thonart, P., & Hamdi, M. (2009). Antioxidant phenolic compounds loss during the fermentation of Chétoui olives. *Food Chemistry*, *116*(3), 662-669.

Othman, N. B., Roblain, D., Chammen, N., Thonart, P., & Hamdi, M. (2009). Antioxidant phenolic compounds loss during the fermentation of Chétoui olives. *Food Chemistry*, *116*(3), 662-669.

P

Parvaiz, M., Hussain, K., Shoaib, M., William, G., Tufail, M., Hussain, Z., ... & Imtiaz, S. (2013). A review: therapeutic significance of olive (*Olea europaea* L; oleaceae family). *Global J Pharm*, *7*(3), 333-336.

Pereira, A. P., Ferreira, I. C., Marcelino, F., Valentão, P., Andrade, P. B., Seabra, R., ... & Pereira, J. A. (2007). Phenolic compounds and antimicrobial activity of olive (*Olea europaea* L. Cv. Cobrançosa) leaves. *Molecules*, *12*(5), 1153-1162.

Pereira, J. A., Pereira, A. P., Ferreira, I. C., Valentão, P., Andrade, P. B., Seabra, R., ... & Bento, A. (2006). Table olives from Portugal: phenolic compounds, antioxidant potential, and antimicrobial activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *54*(22), 8425-8431.

Poiana, M., & Romeo, F. V. (2006). Changes in chemical and microbiological parameters of some varieties of Sicily olives during natural fermentation. *Grasas y aceites*, *57*(4), 402-408.

R

Ragazzi, M., & Rada, E. C. (2008). Effects of recent strategies of selective collection on the design of municipal solid waste treatment plants in Italy. *WIT Transactions on Ecology and the Environment*, *109*, 613-620.

Ribereau-Gayon P.1968. Les composés phénoliques des végétaux. Dunod, 173-201.

Romero, C., Brenes, M., Yousfi, K., García, P., García, A., & Garrido, A. (2004). Effect of cultivar and processing method on the contents of polyphenols in table olives. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *52*(3), 479-484.

Ryan, D., Antolovich, M., Prenzler, P., Robards, K., & Lavee, S. (2002). Biotransformations of phenolic compounds in *Olea europaea* L. *Scientia Horticulturae*, 92(2), 147-176.

S

Sevim, M. S., Buttanri, I. B., Kugu, S., Serin, D., & Sevim, S. (2013). Effect of intravitreal bevacizumab injection before Ahmed glaucoma valve implantation in neovascular glaucoma. *Ophthalmologica*, 229(2), 94-100.

ŞİMŞEK, S., ŞİMŞEK, A., & Kilic, B. (2017). Antioxidant and antimicrobial properties of plant extracts and their recent applications in meat product processing. *Scientific Papers: Series D, Animal Science-The International Session of Scientific Communications of the Faculty of Animal Science*, 60.

Soler-Rivas, C., Espín, J. C., & Wichers, H. J. (2000). Oleuropein and related compounds. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80(7), 1013-1023.

Sousa, A., Ferreira, I. C., Calhella, R., Andrade, P. B., Valentão, P., Seabra, R., ... & Pereira, J. A. (2006). Phenolics and antimicrobial activity of traditional stoned table olives 'alcaparra'. *Bioorganic & medicinal chemistry*, 14(24), 8533-8538.

Spyropoulou, K. E., Chorianopoulos, N. G., Skandamis, P. N., & Nychas, G. J. (2001). Survival of *Escherichia coli* O157: H7 during the fermentation of Spanish-style green table olives (conservolea variety) supplemented with different carbon sources. *International journal of food microbiology*, 66(1-2), 3-11.

T

Talhaoui, N., Taamalli, A., Gómez-Caravaca, A. M., Fernández-Gutiérrez, A., & Segura-Carretero, A. (2015). Phenolic compounds in olive leaves: Analytical determination, biotic and abiotic influence, and health benefits. *Food Research International*, 77, 92-108.

Tovar, M. J., Romero, M. P., Girona, J., & Motilva, M. J. (2002). L-Phenylalanine ammonia-lyase activity and concentration of phenolics in developing olive (*Olea europaea* L cv Arbequina) fruit grown under different irrigation regimes. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 82(8), 892-898.

Z

Zhan, Y., Dong, C. H., & Yao, Y. J. (2006). Antioxidant Activities of Aqueous Extract from Cultivated Fruit-bodies of *Cordyceps militaris* (L.) Link In Vitro. *Journal of integrative plant biology*, 48(11), 1365-1370.

Annexes

Annexes

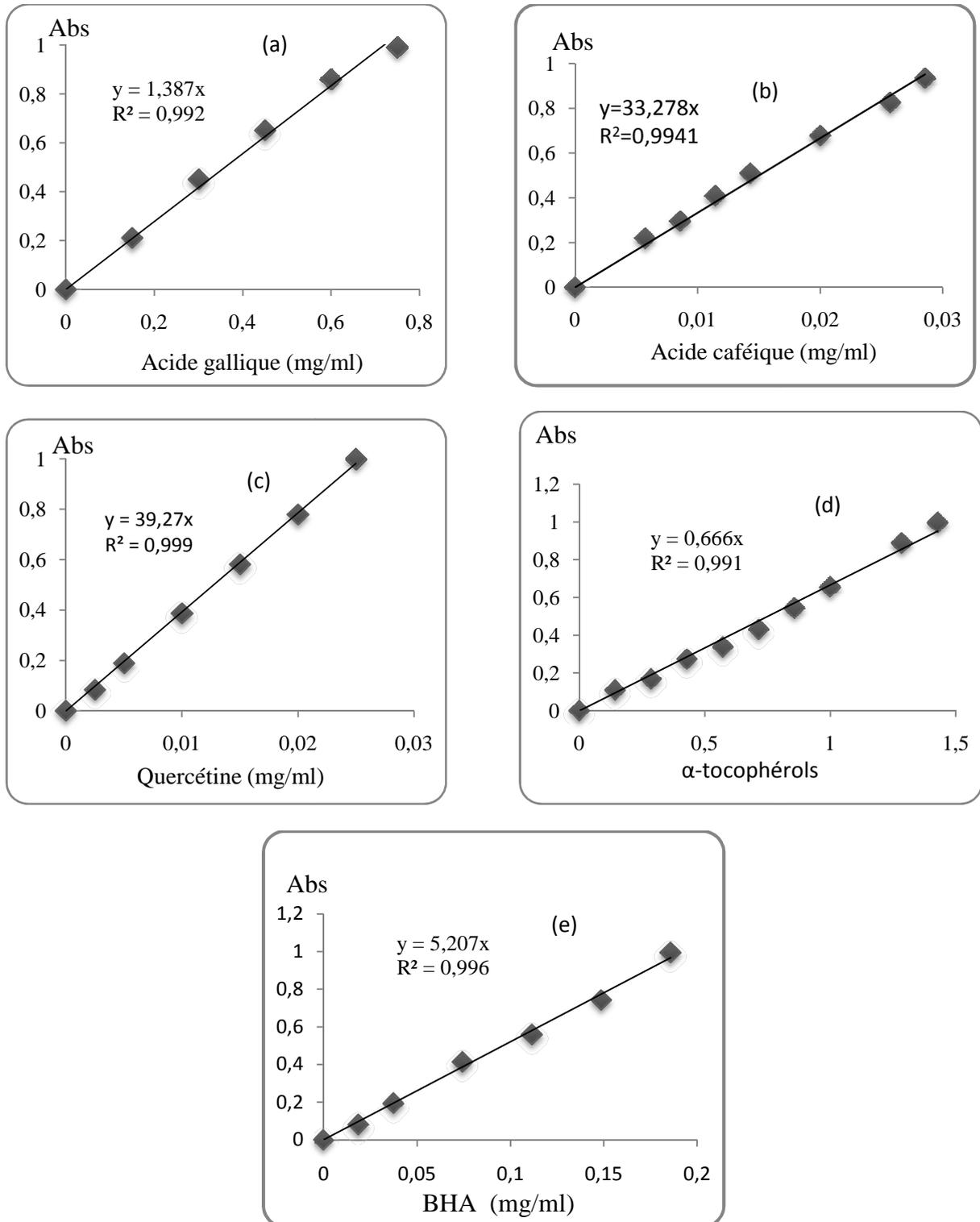


Figure 16 : Courbes d'étalonnage pour le dosage des polyphénols(a), des orthodiphénols(b), flavonoïdes(c), activité anti-radicalaire(d), capacité réductrice de pouvoir réducteur(e),

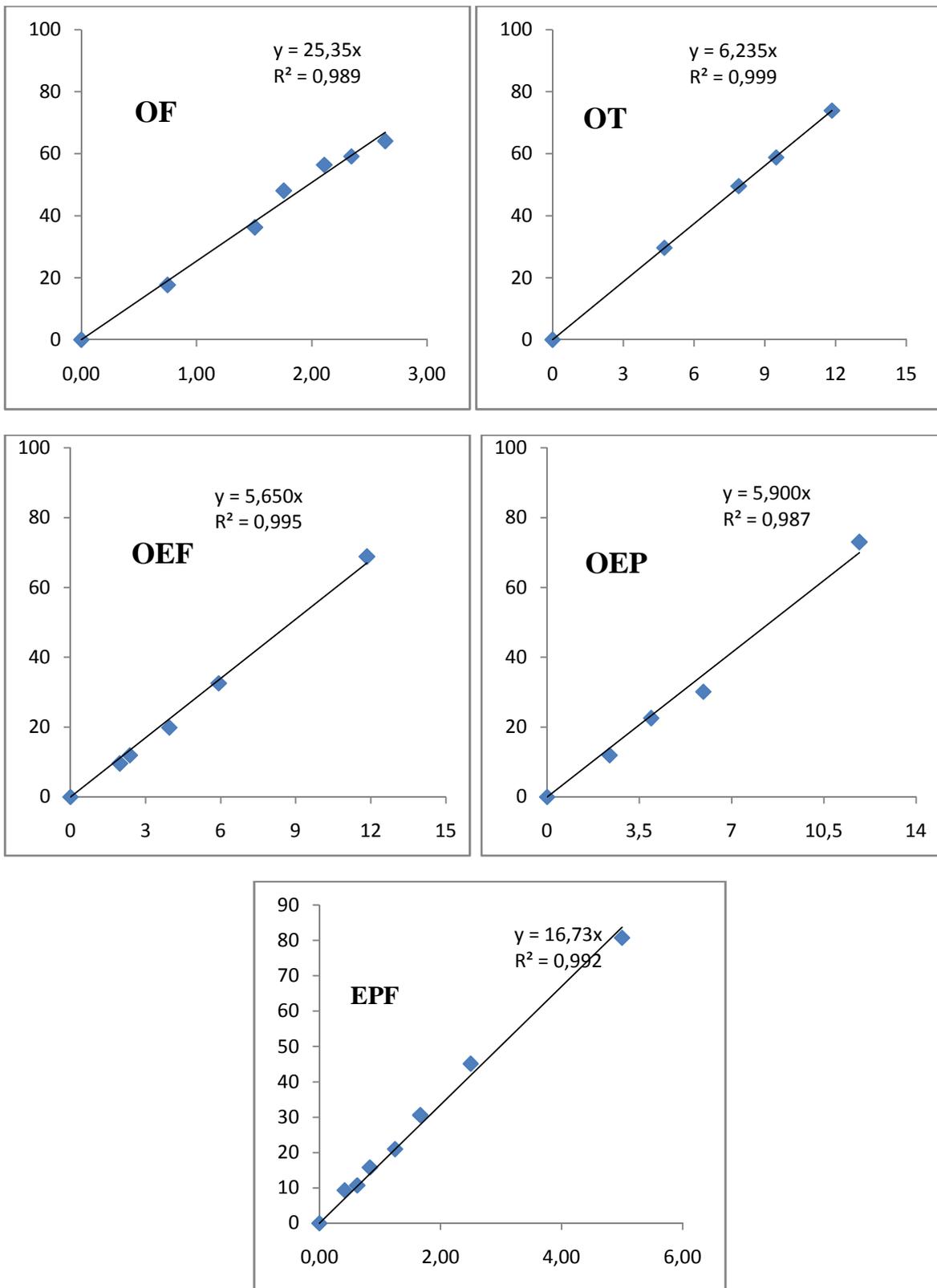


Figure 17: Effet de la concentration des extraits des olives de table sur l'activité anti-radicalaire(IC50).

Résumé

Des études récentes suggèrent que la feuille d'olivier est une source importante en composés phénolique bioactifs. La possibilité d'augmenter la valeur biologique des olives de table l'addition de la feuille d'olivier est l'une des innovations récentes. L'étude vise à étudier l'effet de l'addition des feuilles d'olivier et de leur extrait pour les olives de table tournantes tailladées élaborées naturellement en saumure de la variété *Azzeradj* sur l'activité antioxydante et antibactérienne. Les coupures des olives entraînent 50% de pertes en polyphénols totaux. L'enrichissement des olives tailladées avec les feuilles a rehaussé la teneur *ortho*-diphénols (70,14%). Par contre, l'enrichissement avec l'extrait de feuille d'olivier a donné un effet positif (19,35%) sur la capacité réductrice des extraits. L'évaluation de l'activité antibactérienne n'a enregistré aucune zone d'inhibition vis-à-vis des souches étudiées, L'analyse sensorielle révèle que les olives de table tournantes tailladées enrichit avec l'extrait de poudre de feuilles d'olivier sont les plus appréciées par les jurys experts.

Mots clés : olives de table tailladées, feuilles d'olivier, composés phénoliques, activité antioxydante, activité antibactérienne, analyse sensorielle.

Abstract

Recent studies suggest that olive leaf is an important source of bioactive phenolic compounds. The possibility of increasing the biological value of table olives using polyphenols from olive leaf is one of the recent innovations. The study aims to study the effect of the addition of olive leaves and their extract for the turntable olives naturally grown in brine of the *Azzeradj* variety. The cuts of olives lead to 50% of loss in phenolic compounds. Enrichment of sliced olives with the leaves enhanced *ortho*-diphenol (70,14%) contents. On the other hand, the olives enriched with the extract of the leaf powder has a reducing capacity superior to that of the sliced olives and that of the sliced olives enriched with the leaves. Antibacterial activity did not record any inhibition zone for elaborated olives. Sensory analysis reveals that the slashed turntable olives enriched with olive leaf powder extract are most appreciated by expert juries.

Key words: sliced table olives, olive leaves, phenolic compounds, antioxidant activity, antibacterial activity, sensory analysis.